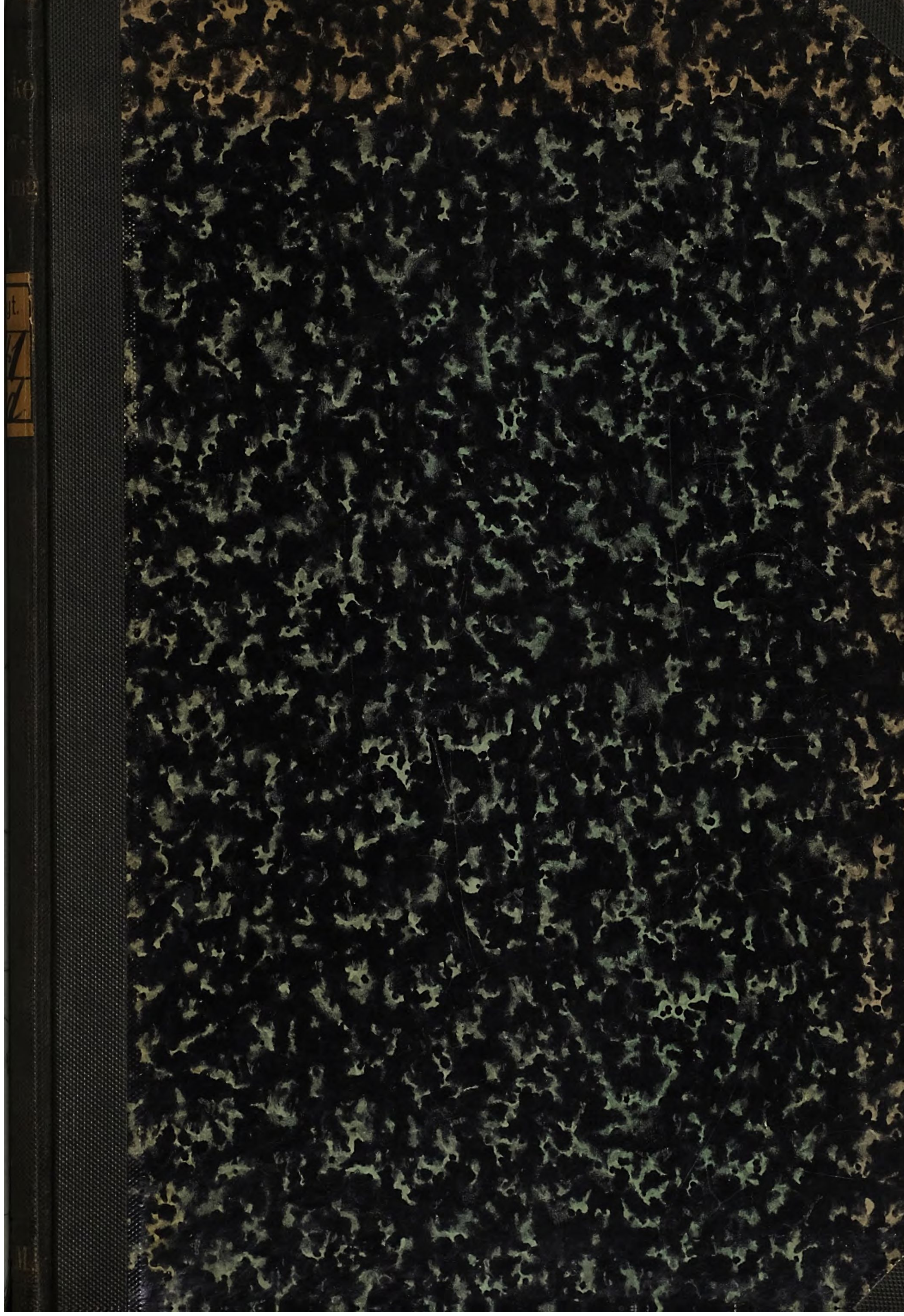




Phyt. 8: 741 ud Untersuchungen

Phyt. 741 nd

UNTERSUCHUNGEN
AUS DEM
BOTANISCHEN LABORATORIUM DER UNIVERSITÄT GÖTTINGEN.

HERAUSGEGEBEN VON
DR. J. REINKE,
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT GÖTTINGEN.

III.

STUDIEN
ÜBER DAS PROTOPLASMA.
ZWEITE FOLGE.

VON
J. REINKE UND L. KRÄTZSCHMAR.

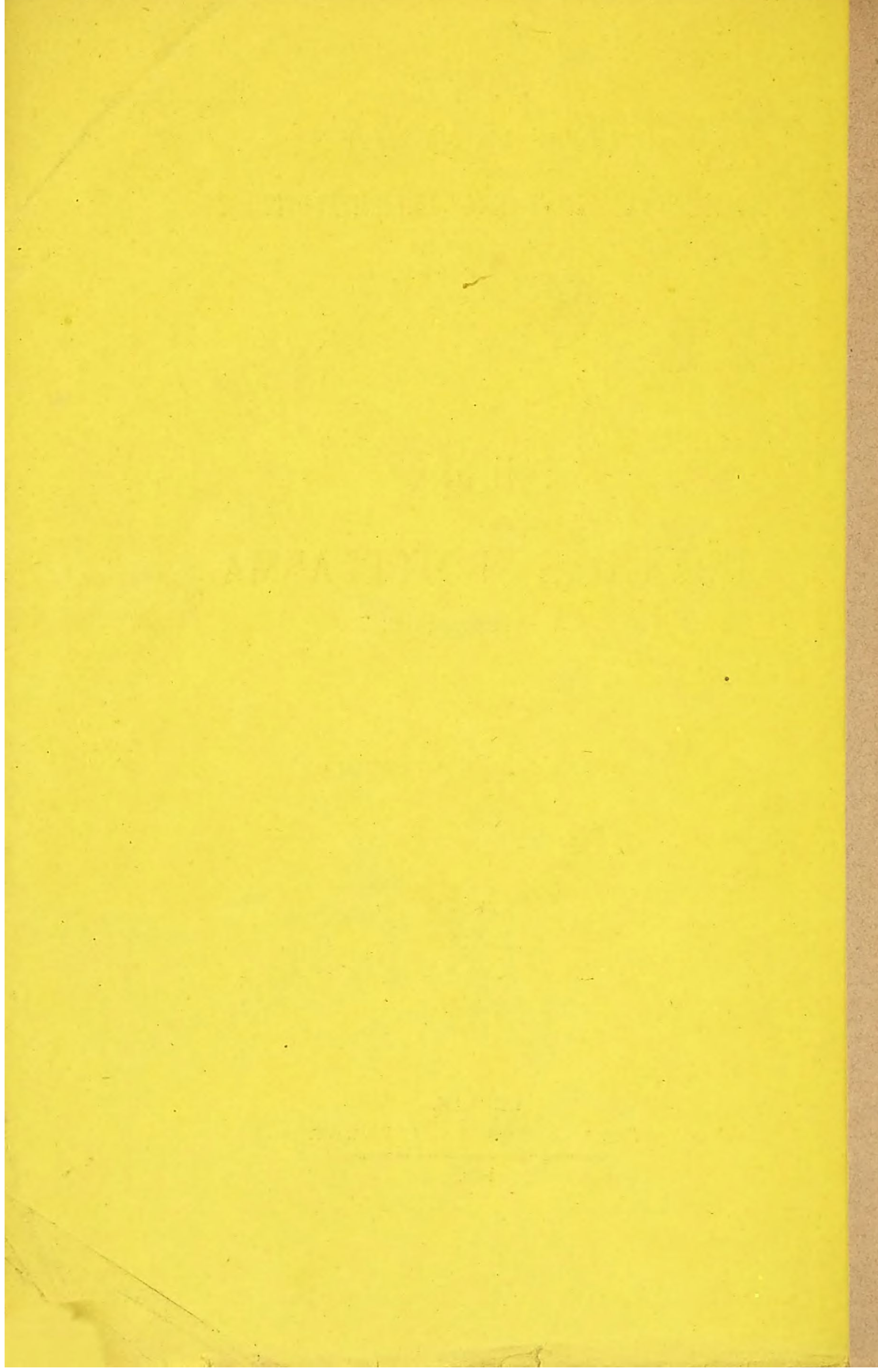


BERLIN.
VERLAG VON PAUL PAREY.
Verlagshandlung für Landwirthschaft, Gartenbau und Forstwesen.
1883.

57583

926

6,00 nd



UNTERSUCHUNGEN
AUS DEM
BOTANISCHEN LABORATORIUM
DER
UNIVERSITÄT GÖTTINGEN.

HERAUSGEGEBEN VON
DR. J. REINKE,
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT GÖTTINGEN.



DRITTES HEFT.
STUDIEN ÜBER DAS PROTOPLASMA II.

BERLIN 1883.
VERLAG VON PAUL PAREY.

STUDIEN ÜBER DAS PROTOPLASMA.

ZWEITE FOLGE.

I. Ein Beitrag zur physiologischen Chemie von *Aethalium septicum*.

Von J. REINKE.

II. Die Kohlenstoffassimilation im chlorophylllosen Protoplasma.

Von J. REINKE.

III. Ueber Turgescenz und Vacuolenbildung im Protoplasma.

Von J. REINKE.

IV. Ueber das Vorkommen und die Verbreitung flüchtiger reducirender
Substanzen im Pflanzenreiche.

Von J. REINKE und L. KRÄTZSCHMAR.



BERLIN 1883.

VERLAG VON PAUL PAREY.



Vorbemerkung.

Das hiermit dem botanischen Publicum übergebene dritte Heft der »Untersuchungen« bildet den Schluss des ganzen literarischen Unternehmens. Dasselbe war ins Leben getreten zu einer Zeit, wo das für Veröffentlichungen bestimmte Material sich derartig häufte, daß es in den Zeitschriften schwierig unterzubringen war. Diese Schwierigkeit besteht zur Zeit nicht mehr, und fällt dadurch das Hauptmotiv für das selbständige Erscheinen der »Untersuchungen« hinweg. Ein Nebenzweck dieser Publikationen kann ebenfalls als erledigt angesehen werden, ich meine die Einführung des Göttinger Instituts als eines Instrumentes wissenschaftlicher Forschung unter die älteren Anstalten, welche gleichen Zielen dienen — und daher finde ich keine Veranlassung, diese Serien selbständig erscheinender Abhandlungen fortzusetzen. Möchten die herausgegebenen drei Hefte wenigstens die Anerkennung bei ihren Lesern finden, daß sie in redlichem Bemühen Versuche bringen, unsere positiven Kenntnisse von der Pflanze in einigen Punkten zu erweitern.

Das vorliegende dritte Heft enthält im Wesentlichen nur Ergänzungen zu dem Inhalt des zweiten; zu einer abschließenden Durchführung konnte die Bearbeitung der bezüglichlichen Probleme in keinem Falle gelangen, sie liefert nur Material in Bruchstücken für eine künftige, klarere Erkenntnis dieser Dinge.

Göttingen, im März 1883.

Reinke.

I.

Ein Beitrag zur physiologischen Chemie

von

Aethalium septicum.

Von

J. Reinke.

I.

Ein Beitrag zur physiologischen Chemie von *Aethalium septicum*.

Von

J. Reinke.

Der Umstand, daß in den Endproducten des vegetabilischen Stoffwechsels Körper von hohem Moleculargewicht und vom Character der Anhydride entschieden vorwalten, deutet darauf hin, daß die progressive Stoffmetamorphose vorwiegend besteht in einer ätherartigen Verknüpfung von Molecülen gewisser Substanzen, die als Baustoffe höherer und niederer Ordnung in Betracht kommen; die Annahme, daß solche ätherartigen Verbindungen namentlich in den Stoffen der protoplasmatischen Gerüstsubstanz und in den Substanzen der Zellwand vorliegen, dürfte wohl kaum auf Widerspruch stoßen. Es ist danach insbesondere auch zu vermuthen, daß ein solcher ätherarthiger Körper im *Plastin* vorliegt, und zwar scheint es mir nahe zu liegen, in demselben ein Product der Synthese aus einem Eiweißstoff und einem Nuclein, unter Eintritt einer größeren stickstofffreien Gruppe zu erblicken. Die Verwandtschaft des Plastins mit den Nucleinen wird durch seinen Phosphorgehalt dargethan, der Eintritt einer stickstofffreien Gruppe durch den Mindergehalt an Stickstoff; durch seine Unlöslichkeit in verdünnten Alkalien ist das Plastin von den Nucleinen unterschieden.

Neuere, von meinem Assistenten Hrn. Dr. FRÖCHTLING ausgeführte Analysen des Plastins bestätigen den Gehalt von rund 12 pCt. Stickstoff für diese Substanz und haben ferner ergeben: für Schwefel

0.33 pCt., für Phosphor 2,15 pCt. *) Das Platinpräparat war durch Auswaschen des frischen Pressrückstandes des Protoplasma mit ganz verdünnter Kalilauge von Nuclein möglichst befreit worden. Soweit sich nach den bisherigen Erfahrungen übersehen läßt, ist das Platin ein einheitlicher, molecular zusammenhängender Atomcomplex, der allerdings nicht absolut, aber doch in ähnlichem Grade rein erhalten wurde, wie z. B. alle bis jetzt analysirten Nuclein-Präparate.

Es werden nach diesen und früheren **) Untersuchungen sich folgende procentische Werthe für die Zusammensetzung des Platins ergeben:

C	.	.	=	53,50
H	.	.	=	7,22
N	.	.	=	12,0
P	.	.	=	2,15
S	.	.	=	0,33
O	.	.	=	24,81.

Dividiren wir diese Werthe durch die Aequivalente, so erhalten wir folgende Verhältniszahlen:

C	.	.	=	4,46
H	.	.	=	7,22
N	.	.	=	0,86
P	.	.	=	0,07
S	.	.	=	0,01
O	.	.	=	1,55

Machen wir die Voraussetzung, daß im Platin-Molecül 1 Atom

*) *Schwefelbestimmung;*

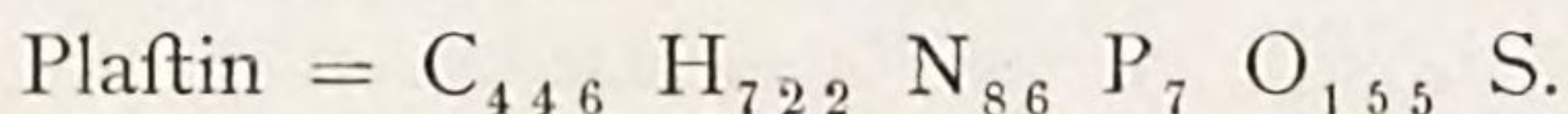
- I. 1,3630 g. Platin lieferte mit Soda und Salpeter geschmolzen 0,0360 g Bariumsulfat entsprechend 0,36 pCt. S.
- II. 1,2995 g Platin lieferten 0,0286 g Bariumsulfat entsprechend 0,30 pCt. S.

Phosphorbestimmung:

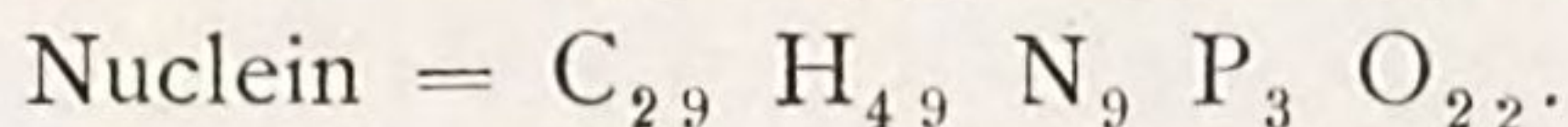
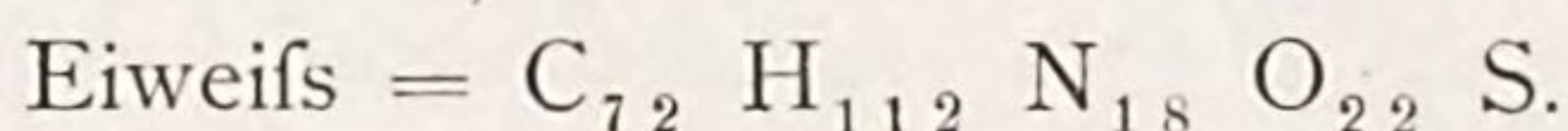
- I. 1,2995 g Platin gaben mit Soda und Salpeter geschmolzen 0,0970 g Magnesiumpyrophosphat entsprechend 2,08 pCt. P.
- II. 0,9618 g Platin gaben 0,0765 g Magnesiumpyrophosphat entsprechend 2,22 pCt. P.

**) Vgl. Studien über das Protoplasma I. S. 50. Dasselbst ist auch die Darstellung des Platins aus dem Protoplasma von Aethalium angegeben.

Schwefel enthalten sei, so würde danach folgender empirisch-stöchiometrischer Ausdruck herauskommen:



Diesem Ausdrucke kommt natürlich keine weitere Bedeutung zu, als daß er die Vergleichung mit der Zusammensetzung der Eiweißstoffe und Nucleine ermöglicht; die für diese letzteren Verbindungen von LIEBERKUEHN und von MIESCHER berechneten Formeln lauten:



Nehmen wir nun an, daß in das Molekül des Plastins zwei Nucleinmoleküle eingetreten sind, und berechnen wir für den Rest nach seinem Stickstoffgehalt als weitere Componenten 4 Eiweißmoleküle, so bleibt ein stickstofffreier und sauerstoffarmer Rest von $\text{C} = 100$, $\text{H} = 176$, $\text{O} = 23$, welcher ganz gut gedeutet werden kann auf eine größere Zahl von Molekülen einer Fettsäure (der Reihe der Stearinsäure oder der Oelsäure), welche unter Wasserverlust sich aneinander gefügt haben.

Natürlich können diese Andeutungen keinen weiteren Werth beanspruchen, als daß sie vielleicht geeignet sind, einen Gesichtspunkt für weitere Forschungen in der bezeichneten Richtung zu gewähren.

* * *

Es schien nun aus verschiedenen Gründen wünschenswerth zu sein, eine vergleichende Untersuchung auszuführen über den Gehalt an chemisch gebundenem Wasser, welchen *Aethalium septicum* im protoplasmatischen und im Zustande der Sporenreife besitzt.*)

Die auffallendste Veränderung, welche die Substanz des *Aethalium* in dieser Umwandlung erfährt, besteht offenbar in der Bildung der Zellwände um den aus Protoplasma bestehenden Antheil der Sporen; daß für jede Spore einer der vielen Kerne des Plasmodiums das organische Centrum bildet, ist eine naheliegende Vermuthung. Von

* Schon BAEYER hat zu einer derartigen Untersuchung Anregung gegeben. — Vergl. Bericht d. d. chem. Ges. 1870. S. 63.

den Capillitiumfasern und der Rindenschicht des Fruchtkörpers dürfen wir wohl annehmen, daß ihre Substanz derjenigen der Sporenwand gleicht.

Wenn die Bildung dieser Wandsubstanzen einen Condensationsvorgang unter Wasserabspaltung darstellt, so würden wir in dem eventuell zu beobachtenden Mindergehalt der Trockensubstanz der reifen Fruchtkörper an Wasserstoff gegenüber der Trockensubstanz des Protoplasma nur dann ein Maß für die Menge des bei der Wandbildung abgespaltenen Wassers besitzen, wenn wir sicher wüßten, daß nicht auch ähnliche Condensationen beim Uebergang des beweglichen Protoplasma in die ruhende Inhaltsmasse der Sporen vorkämen; darüber wissen wir aber gar nichts. Schon dieser Umstand verbietet es, ohne Weiteres beobachtete Differenzen nur auf die Bildung der Zellwände als alleinigen Grund zurückzuführen. Dann kommt noch hinzu, daß die in Betracht kommenden Substanzen nur bei niedriger Temperatur durch sehr langes Verweilen über Schwefelsäure getrocknet werden können; hat man durch diese Procedur endlich ein constantes Gewicht erreicht, so muß man die Voraussetzung machen, daß die beiden zu vergleichenden Substanzgemenge noch einen gleich großen, (jedenfalls sehr kleinen,) Rest von hygroskopisch gebundenem Wasser enthalten. Auf jeden Fall entweichen aber auch über Schwefelsäure auch geringe Mengen anderer flüchtiger Stoffe, als Wasser, sicher z. B. Ammoniumcarbonat, und hier müssen wir die gleiche Voraussetzung machen, d. h. daß aus dem Protoplasma und aus den Sporen gleich viel davon entweichen. Endlich konnte pulverisierbare Trockensubstanz des Protoplasma nur dadurch erhalten werden, daß dasselbe erst in Alcohol erhärtet und dann der Alcohol bei etwa 80° C. verjagt wurde. Alle diese Umstände schließen Fehlerquellen ein, welche sich nicht beseitigen lassen, und durch welche die Unsicherheit des Resultats zunimmt. Wir werden daher aus den Bestimmungen nur einen Schluß auf Wasserabspaltung ziehen dürfen, wenn sich *erhebliche* Differenzen im Wasserstoffgehalt ergeben, deren Größe die genannten Fehlerquellen verträgt, und in dem Ergebniss nicht ein *quantitatives* Maß, sondern nur die *qualitative* Constatirung einer Bewegung des chemisch gebundenen Wassers erblicken dürfen.

Um der bezeichneten Frage nach dem Verhalten des Waffers bei der Sporenbildung näher zu treten, habe ich dieselbe folgendermafsen präcificirt:

- a) Wie viele Gewichtstheile Wafferstoff kommen sowohl in der verbrennlichen Trockensubstanz des Protoplasma als auch in derjenigen der Sporen auf 100 Gewichtstheile Kohlenstoff.
- b) Wie grofs ist die Differenz des Quotienten $\frac{C}{H}$ zwischen Protoplasma und Sporen.

Als Ausgangsmaterial diente lufttrocknes Protoplasma und lufttrockne Substanz reifer Fruchtkörper. Die für die Untersuchung nöthigen Analysen wurden von meinem Assistenten, Herrn Dr. FRÖCHTLING, ausgeführt.

A) Protoplasma.

Es ward zunächst eine Bestimmung des gesammten Kohlenstoffs und des Wafferstoffs durch Verbrennung mit Bleichromat und Kaliumpyrochromat ausgeführt.

Bestimmung	I	ergab	.	.	.	30,72	pCt.	C,
	„	II	„	.	.	30,66	„	„
						im Mittel	33,69	pCt. C.
Bestimmung	I	ergab	.	.	.	5,42	pCt.	H,
	„	II	„	.	.	5,39	„	„
						im Mittel	5,40	pCt. H.

Dann ward der im Protoplasma in Form von Kohlenfäure (Carbonaten) enthaltene Kohlenstoff durch eine Kohlenfäurebestimmung festgestellt.

Bestimmung	I	ergab	.	.	.	4,29	pCt.	C,
	„	II	„	.	.	4,32	„	„
						im Mittel	4,30	pCt. C als Kohlenfäure.

Danach betrug der in *verbrennlicher Form* im Protoplasma von Aethalium enthaltene Kohlenstoff $30,69 - 4,30 = 26,39$ pCt. C in der lufttrockenen aschenhaltigen Substanz.

Die Aschenbestimmung gab folgende Werthe:

I.	.	.	38,31 pCt.
II.	.	.	38,26 „
im Mittel			38,28 pCt. Afche.

Nunmehr ward zu einer Bestimmung des hygroskopisch gebundenen Waffers geschritten, in der Weise, daß die lufttrockene Substanz so lange bei Zimmertemperatur über Schwefelsäure aufbewahrt wird, bis sie keine Gewichtsabnahme mehr erkennen läßt; der hierbei stattgehabte Gewichtsverlust wurde notirt.

Bestimmung I	ergab	.	.	4,59 pCt. H ₂ O,
„ II	„	.	.	4,69 „ „
im Mittel				4,64 pCt.

hygroskopisch gebundenes Wasser im lufttrockenen Protoplasma.

Jetzt konnte die verbrennliche Substanz des Protoplasma berechnet werden; in demselben waren enthalten:

38,28 pCt. Afche
4,64 „ Wasser
zusammen 42,92 pCt.

$100,00 - 42,92 = 57,08$ *verbrennliche Substanz* im lufttrockenen Protoplasma.

Da nun in 57,08 Theilen verbrennlicher Substanz 26,39 Theile Kohlenstoff enthalten sind, so berechnet sich für 100 Theile verbrennlicher Substanz **46,23 pCt. Kohlenstoff.**

Bei der obigen Wasserstoffbestimmung im *lufttrockenen* Protoplasma war der Wasserstoff des hygroskopisch gebundenen Waffers mit enthalten gewesen. Nun enthalten 4,69 Gewichtstheile Wasser 0,52 Gewichtstheile Wasserstoff, die von dem durch die Verbrennung gewonnenen Werthe 5,40 in Abzug gebracht 4,88 pCt. H in organischer Bindung im lufttrockenen Protoplasma ergeben.

Sind nun in 57,08 Theilen verbrennlicher Substanz 4,88 Theile Wasserstoff enthalten, so ergiebt dies für 100 Theile verbrennliche Substanz **8,55 pCt. Wasserstoff.**

B. Reife Fruchtkörper.

Gesammt-Kohlenstoff.

Bestimmung I	33,72 pCt.
„ II	33,34 „
im Mittel	33,53 pCt. C,

Gesammt-Wasserstoff.

Bestimmung I	4,96 pCt.
„ II	4,72 „
im Mittel	4,84 pCt. H.

Kohlenstoff als Kohlenfäure.

I	5,20 pCt.
II	5,31 „
im Mittel	5,25 pCt. C.

Danach beträgt der Kohlenstoff in verbrennlicher Form:

$$33,53 - 5,25 = 28,28 \text{ pCt. C.}$$

in luftrockener, aschenhaltiger Substanz.

Aschenbestimmung.

I	39,14 pCt.
II	39,18 „
im Mittel	39,16 pCt.

Wasserbestimmung.

Durch Trocknen über Schwefelsäure verlor die Substanz:

I	7,10 pCt.
II	7,14 „
im Mittel	7,13 pCt.

In der lufttrockenen Substanz waren enthalten an Asche und Wasser $39,16 + 7,13 = 46,29$ pCt., mithin an *verbrennlicher Substanz* 53,71 pCt.

Für 100 Theile verbrennlicher Substanz berechnet sich jetzt ein Gehalt von **52,65 pCt. Kohlenstoff.**

Da der Wasserstoff des hygroskopisch gebundenen Wassers der

Gesammtsubstanz 0,79 Gewichtstheile ausmacht, so erhalten wir für den Wasserstoff in verbrennlicher Form $4,84 - 0,79 = 4,05$ pCt.

Hiernach berechnet sich der Wasserstoffgehalt auf 100 Theile verbrennlicher Substanz zu **7,56 pCt. Wasserstoff.**

C. Das gesuchte Verhältniss.

Im *Protoplasma* kommen auf 46,23 Gewichtstheile Kohlenstoff 8,55 Gewichtstheile Wasserstoff, mithin auf 100 Gewichtstheile Kohlenstoff:

18,49 Gewichtstheile Wasserstoff.

In den reifen Fruchtkörpern kommen auf 52,65 Gewichtstheile Kohlenstoff 7,56 Gewichtstheile Wasserstoff, mithin auf 100 Gewichtstheile Kohlenstoff:

14,32 Gewichtstheile Wasserstoff.

Demnach hat bei der Sporenbildung ein Verlust von 4,17 Gewichtstheilen Wasserstoff in verbrennlicher Form auf je 100 Gewichtstheile Kohlenstoff stattgefunden; oder auf 100 Atome Kohlenstoff ein Verlust von 50 Atomen Wasserstoff, beziehungsweise von 25 Moleculen Wasser.

Würden wir diesen Werth gänzlich auf Rechnung von Anhydridbildung setzen, so entspräche der Wasserstoffverlust genau dem procentischen Wasserstoffverlust bei der Bildung von Aethylacetat aus Aethylalcohol und Essigsäure. Da aber die anhydritbildenden Substanzen im Protoplasma durchschnittlich sicher ein viel größeres Moleculargewicht besitzen, beziehungsweise viel mehr Kohlenstoffatome im Molecul enthalten, als Aethylalcohol und Essigsäure, so kann nicht daran gezweifelt werden, *dass der gefundene Werth des Verlustes an Wasserstoff zu groß ist*, um allein auf äußere Anhydridbildung entfallen zu können, doch kann auch *intramoleculare* Anhydridbildung im Spiele sein.

Wenn wir aber auch annehmen, dass die Eingangs erwähnten Fehlerquellen der Untersuchung alle in dem Sinne gewirkt haben, die gefundene Differenz im Wasserstoffgehalt zwischen Protoplasma und Substanz der Fruchtkörper zu vergrößern, so wird man doch nicht umhin können, in dieser Beobachtungsreihe ein sprechendes

Zeugniss dafür zu erblicken, dass Proceffe der Wasserabspaltung beim Uebergang des beweglichen Protoplasma in den ruhenden Zustand der Sporen in hervorragender Weise thätig sein müssen; denn der gefundene Wasserverlust ist viel zu bedeutend, als dass die erhaltene Differenz durch die Fehlerquellen gedeckt werden könnte.

Dies Ergebniss ist wenig günstig der Hypothese, dass die membranbildenden Substanzen der Pflanzenzelle durch »Abspaltung« aus Eiweissstoffen entstehen sollen. Wenn solche direkte Abspaltungen von Kohlehydraten aus Eiweisskörpern vorkommen sollten, so würden sie wahrscheinlich mit Hydratation, auf keinen Fall aber mit Dehydratation verbunden sein. Es ist die erwähnte Hypothese, zu deren Gunsten ich Thatfachen nicht anzuführen wüsste, bislang nichts weiter als ein Ausfluss des Dogma von der Omnipotenz des Eiweiss, das leider immer noch in der Pflanzenphysiologie sein Haupt hoch hält. Auch ich zweifle keineswegs daran, dass die Eiweissstoffe zu den wichtigsten chemischen Trägern des Lebensprocesses gehören; aber so leicht möchte ich mir die Lösung der physiologischen Probleme nicht machen, dass ich für jeden, vor der Hand in seinen Ursachen nicht übersehbaren Prozess die Erklärung bereit hielte: das hat das Eiweiss gethan. Ohne dem Eiweiss die Wichtigkeit seiner, bis jetzt allerdings noch grösstentheils unerkannten Bedeutung schmälern zu wollen, glaube ich meinerseits, dass *das Plastin in viel höherem Masse als die Eiweisskörper die eigentliche chemische Grundlage des lebens-thätigen Protoplasma ausmacht*, und dass dasselbe in keiner Pflanzenzelle fehlt, geht aus dem Umstande hervor, dass in allen Pflanzenzellen nach Behandlung mit Lösungsmitteln für Eiweissstoffe, Nuclein etc. immer ein stickstoffhaltiges Residuum von nicht unbedeutlicher Quantität zurückbleibt. Nach den obigen Darlegungen kann aber das Plastin nicht mehr zu den Eiweissstoffen gerechnet werden, sondern ist als ein Körper von viel complicirterer Zusammensetzung anzusehen. Dass die vorausichtlich enorme Grösse des Molekulargewichts zugleich zahlreiche Isomerieen und Metall-Substitutionen gestatten wird, ist klar, und haben wir es demnach vorausichtlich bei verschiedenen Pflanzen mit sehr zahlreichen, verschiedenen Plastinen zu thun, vielleicht

kommt jeder Species ihr besonderes Plastin zu, oder gar eine ganze Combination von Plastinen, und es wäre keineswegs undenkbar, daß die Variation der Arten einen Anstoß durch chemische Vorgänge, beziehungsweise Aenderungen, in der Zusammensetzung der Plastinmoleküle erführe, welche die Gerüstsubstanz des Protoplasmaleibes aufbauen.

Das Plastin ist meines Erachtens eine für das Zustandekommen von lebendem Protoplasma unbedingt nothwendige Verbindungsform, ein Gleiches kann von den Eiweißstoffen nicht behauptet werden; denn es giebt lebsthätiges Protoplasma, in welchem sich keine Spur von Eiweißstoffen nachweisen läßt. Eine von mir mit sämmtlichen, auch den empfindlichsten, Eiweiß-Reagentien geprüfte *Vaucheria* ergab ein durchaus eiweißloses Protoplasma. Dadurch sinken die Eiweißstoffe in der Pflanzenzelle auf die Bedeutung zwar sehr verbreiteter, aber nicht unbedingt nothwendiger und constanter Bau- und Reservestoffe herab, die schon in der Trockensubstanz des Protoplasma von *Aethalium septicum* nicht mehr als 6 pCt. betragen.

II.

Die Kohlenstoffassimilation
im
chlorophyllosen Protoplasma.

Von

J. Reinke.

Daß zahlreiche organische Substanzen den Schimmelpilzen als Substrat dienen, ist eine der alltäglichen Erfahrungen; daß ferner nicht nur die complicirten Gemenge, welche den abgestorbenen Thier- und Pflanzenkörper zusammensetzen, dem Schimmeln unterworfen sind, sondern daß auch in Lösungen sehr einfacher Kohlenstoffverbindungen Schimmelflocken auftreten können, ist eine dem Arzt, Apotheker und Chemiker von jeher wohl bekannte Thatfache.

Lange gedauert hat es aber, bis die Physiologie sich dieser wichtigen Erscheinungen bemächtigte. Man begnügte sich mit dem Raisonement: Die chlorophyllhaltigen Pflanzen vermögen allein aus unorganischer Materie organische Substanz zu bereiten, während die Pilze auf Ernährung aus organischer Substanz angewiesen sind. Dieser leicht festzustellende Gegensatz befriedigte die Botaniker auch noch zu einer Zeit, als die Chemie längst die principielle und wissenschaftliche Scheidung zwischen organischen und anorganischen Körpern fallen gelassen und die Verbindungen CO und CO₂ mit den Bestandtheilen des Thier- und Pflanzenkörpers zu dem Complex der *Kohlenstoffverbindungen* vereinigt hatte, die zusammen in einem wissenschaftlich haltbaren Gegensatz den Verbindungsreihen anderer Grundstoffe, z. B. den Siliciumverbindungen, den Borverbindungen u. f. w. gegenübergestellt werden können.

Das Verdienst, sich nicht mit der Wahrnehmung zu begnügen, daß Schimmelpilze »in allen möglichen organischen Lösungen« gedeihen, und die Frage zu stellen, ob gewisse einfach gebaute Kohlenstoffverbindungen eine ausreichende Kohlenstoffquelle für die Er-

nährung der Schimmelpilze gewähren, knüpft sich an den Namen PASTEUR'S. *)

PASTEUR stellte eine Nährlösung her aus destillirtem Wasser, »Phosphor« (Hefefasche), Ammoniak und versetzte dieselbe in der einen Versuchsreihe mit Traubensäure, in der anderen mit Rohrzucker. Es gelang in beiden Lösungen Schimmelpilze bis zur Fructification zu erziehen, während die Entwicklung unterblieb, wenn einer der Bestandtheile der Lösung fortgelassen war. Traubensäure wie Zucker waren somit die einzigen Kohlenstoffquellen für die Ernährung der Pilze; in Bezug auf erstere machte PASTEUR dann noch die interessante Wahrnehmung, daß die Traubensäure durch die Vegetation des Pilzes zunächst in die beiden optisch aktiven Weinsäuren gespalten wurde, daß hierauf die Rechtsweinsäure aber schneller verbraucht wurde, als die Linksweinsäure.

Durch diese Versuche PASTEUR'S war der sichere Beweis erbracht, daß aus einer verhältnißmäßig einfachen, sogenannten organischen Verbindung, der Weinsäure, ein Pilz den gesammten für den Aufbau von Protoplasma und Zellwand nöthigen Kohlenstoff zu entlehnen, zu *assimiliren* vermag. Diesen letzteren Ausdruck halte ich auch für den vorliegenden Fall für den folgerechtesten und am meisten geeigneten; denn die Weinsäure bleibt ebenfowenig Component oder gar ausschließliches, nothwendiges Component des Pilzprotoplasma, wie die aufgenommene Kohlenensäure unmittelbarer nothwendiger Bestandtheil des chlorophyllhaltigen, belichteten Protoplasma bleibt. Wollte man aber sagen — wie das wirklich geschehen ist — die Pilze vermöchten sich nur aus assimilirten Stoffen zu ernähren und die Weinsäure sei eine solche assimilirte Verbindung, so gelangt man nothwendig zu der unsinnigen Consequenz, daß ein Chemiker, welcher in seinem Laboratorium die Weinsäure synthetisch darstellte, dieselbe *assimilirt* habe.

*) PASTEUR: Note relative au *Penicillium glaucum* et à la dissymétrie moléculaire des produits organiques naturels. Comptes rendus. Band 51 S. 298. 1860 und: Recherches sur le mode de nutrition des Mucédinées; l. c. S. 709.

Nach den Resultaten von PASTEUR's Untersuchungen lag es nahe, zu fragen, ob nicht noch einfachere Verbindungen als die Weinsäure zur Kohlenstoff-Ernährung von Pilzen ausreichen. Diese Frage wurde in Bezug auf die *Essigsäure* von ZÖLLER*) untersucht und in positivem Sinne beantwortet; diese Säure genügt für die Entwicklung von Schimmelpilzen als ausschließliche Quelle des Kohlenstoffs.

Durch diese Untersuchungen von PASTEUR und ZÖLLER war insofern eine Basis für die Kenntniss der Kohlenstoffaneignung durch Pilze gewonnen, als festgestellt war, dass zwei der einfacher gebauten Carbonsäuren den Kohlenstoffbedarf eines Pilzes zu decken vermögen. Allein die Tartrat- und Acetatgruppe sind im Vergleich zur Carbonatgruppe immerhin noch relativ complicirte Atomgruppierungen und ein besseres Verständniss der Kohlenstoffernährung stand erst zu erwarten, wenn man die letzten, primären Atomgruppen, wie sie z. B. das Molecül der Essigsäure als nächste unmittelbare Bestandtheile zusammensetzen, auf ihren Ernährungswerth prüfte; das Ergebniss derartiger Versuche musste auch für die Kenntniss der Synthesen des vegetabilischen Protoplasma im Allgemeinen von grösstem Interesse sein und konnte zugleich für das Studium des Kohlenstoffassimilations-Processes in grünen Pflanzentheilen von Bedeutung werden; denn die Möglichkeit erscheint immerhin naheliegend, dass bei *allen* Protoplasma-Synthesen, wie sie durch den lebenden Organismus der Pflanzen vollzogen werden, stets gewisse constante Atomgruppen als Ausgangspunkt dienen.

Speculative Betrachtung und mannigfach variirte Versuche müssen zur Entscheidung der hier sich eröffnenden Fragen zusammenwirken, das Eine ohne das Andere wird schwerlich zu befriedigenden Resultaten zu führen vermögen.

Für theoretische Untersuchungen der Assimilations- und Stoffwechselvorgänge in der Pflanze besitzen wir eine zwar kurze, aber ausserordentlich wichtige Directive von berufenster Seite, nämlich von

*) Ueber Ernährung und Stoffbildung der Pilze. Sitzungsbericht d. physic. medic. Societät zu Erlangen v. 10. Juli 1871.

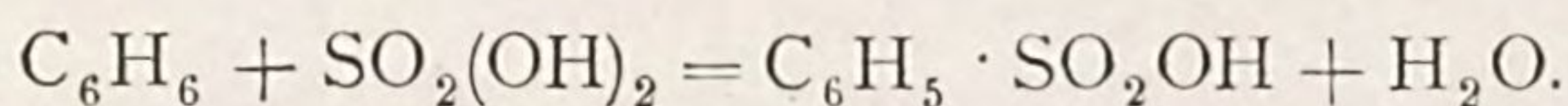
BAEYER*), welche, obwohl bereits im Jahre 1870 erschienen, trotzdem in den seither herausgekommenen Handbüchern entweder gar nicht berücksichtigt oder doch nicht gebührend gewürdigt worden ist. Aus diesem Grunde möge es mir gestattet sein, etwas näher auf den Inhalt jener Ausführungen BAEYER'S einzugehen, wobei ich nur die bekannt gewordene Theorie dieses Forschers über den Formaldehyd als Assimilationsproduct des chlorophyllhaltigen Protoplasma nicht weiter berühre.

Nach BAEYER muß die Abspaltung von Wasser bei den Umsetzungen innerhalb des Pflanzenkörpers eine ebenso wichtige Rolle spielen, als z. B. die Oxydation. In den Verbindungen, welche aus C, H und O bestehen, kann nun der Sauerstoff nur vorkommen als C—OH, als C—O—C oder als C=O. Von diesen Gruppierungen entspricht C—O—C der Structur der Aether und Anhydride und läßt sich in der Regel durch Wasseraufnahme in 2 (C—OH) umwandeln, während die Gruppe C=O in Aldehyden, Ketonen und Säuren vorkommt. Wenn nun durch Wasseraustritt aus einem entsprechenden Atomcomplexe zwei ungesättigte Affinitäten entstehen und diese sich unter einander sättigen, so bleibt von den ursprünglichen beiden OH-Gruppen ein O zurück, das entweder als Brücke zwischen zwei C Atomen dient oder nur an einem C haftet: das Resultat dieser *Anhydridbildung* ist die Gruppe C—O—C oder C=O. Oder es werden durch Vereinigung von OH mit einem H, das an einem C sitzt, zwei C-Affinitäten frei, welche sich unter einander *einwerthig* binden, wenn sie noch gar nicht oder *doppelt*, wenn sie schon einfach verbunden waren: dies nennt BAEYER *Condensation*. Endlich können die C-Atome auch ungesättigt bleiben oder sich anderweitig verbinden, zu den freien Affinitäten kann sich auch wieder Wasser oder eine davon abgeleitete Gruppe hinzuaddiren.

Anhydridbildung und Condensation kann innerhalb eines Molecüls oder zwischen zwei verschiedenen Molecülen erfolgen, der intramole-

*) Ueber die Wasserentziehung und ihre Bedeutung für das Pflanzenleben und die Gährung. Ber. d. d. chem. Ges. 1870. S. 63.

cularen Bindungen sind wiederum drei zu unterscheiden, je nachdem der Vorgang an denselben, an zwei benachbarten oder an entfernteren Kohlenstoffatomen stattfindet. Aeufsere Anhydridbildung zeigen z. B. die Aetherarten, die Säureanhydride; für die Pflanzen sind jedenfalls »äufsere Condensationen« von hervorragender Wichtigkeit, wobei ein OH des einen Molecüls mit einem H des anderen Molecüls Wasser bildet und beide Reste sich dann mit den freien Affinitäten verbinden, wie z. B. bei den Sulfosäuren:



In analoger Weise muß sich auch Formaldehyd, der in wäffriger Lösung als $\text{CH}_2(\text{OH})_2$ anzusehen ist, zu Zucker condensiren. Es können auch zwei Kohlenstoffatome, die schon mit einer Valenz an einander hängen, mit zwei Zugkräften gebunden werden. Gehen beide Reactionen zu gleicher Zeit vor sich, so erhält man eine Condensation, wie sie Aldehyde und Ketone zeigen, und welche darin besteht, daß die Carbonylgruppe mit 2 H der Methylgruppe Wasser bildet und beide Kohlenstoffatome sich mit zwei Affinitäten an einander ketten. Man kann dies auch so auffassen, daß der O des CO sich direkt mit H vereinigt, so bei Bildung der Zimmtsäure, des Mesityloxyds, des Phoron, des Cumarin aus Salicylaldehyd und Essigsäureanhydrid u. f. w.

Ohne alle Einzelheiten der BAEYER'schen Abhandlung zu berücksichtigen, dürfte schon aus dem Mitgetheilten einleuchten, daß hier reichhaltige Gesichtspunkte für die Beurtheilung der Synthesen im Protoplasma, wie sie namentlich auch bei der Kohlenstoffassimilation der Pilze unzweifelhaft stattfinden, geboten werden; an dieser Stelle sollte aber der Arbeit BAEYER'S zunächst im historischen Zusammenhange gedacht werden.

Einen werthvollen Versuch, die Ergebnisse theoretischer Combination durch Versuche zu prüfen, und namentlich festzustellen, inwiefern die *chemische Structur* einer Kohlenstoffverbindung im Zusammenhang steht mit dem Vermögen, Schimmelpilze zu ernähren,

hat darauf A. STUTZER*) geliefert. Aus den Untersuchungen STUTZER's hebe ich folgende Ergebnisse hervor.

Von Kohlenstoffverbindungen werden durch *Penicillium* assimiliert: Glycerin, Milchsäure, Bernsteinsäure, Aethylalkohol, Äpfelsäure, Citronensäure, Weinsäure, Glycerinsäure.

Als *nicht* assimilierbar erwiesen sich dagegen: Oxalsäure (sowohl frei wie auch als Ammoniumoxalat), Ameisensäure, freie Butteräure, freie Baldriansäure, Amylalkohol, Acetaldehyd; die vier letzteren Verbindungen scheinen zugleich antiseptisch zu wirken, indem ein Zusatz derselben die Entwicklung von *Penicillium* in sonst geeigneten Nährlösungen verhindert.

In diesem Ergebnisse sieht STUTZER einerseits einen Zusammenhang hervortreten zwischen der Constitution gewisser Verbindungen und ihrem Vermögen, als Kohlenstoffquelle für Pilze zu dienen, zugleich aber auch den Einfluss gewisser specifischer Eigenschaften, wie sie sich z. B. im Verhalten der freien Butteräure ausspricht, während doch Essigsäure nach den Versuchen von ZÖLLER Pilze zu ernähren vermag. Jedenfalls sind nach STUTZER außer der chemischen Structur auch physikalische Eigenschaften, z. B. Löslichkeitsverhältnisse, für die einschlägigen Fragen maßgebend. STUTZER glaubt sich zu folgenden allgemeinen Schlüssen aus seinen Versuchen berechtigt:

1. Die Carboxylgruppe ernährt nicht.
2. Von carboxylierten Kohlenwasserstoffen können einige, wie Essigsäure und Bernsteinsäure direct als Kohlenstoffquelle für die Ernährung der Pilze dienen, während andere, wie Butteräure und Baldriansäure dies nicht vermögen.
3. Aehnlich verhält es sich mit den hydroxylirten Kohlenwasserstoffen: Zucker, Glycerin, auch Aethylalkohol ernähren, Amylalkohol nicht.
4. Die carboxylierten, hydroxylirten Kohlenwasserstoffe erwiesen sich, soweit untersucht, als Nährstoffe.

*) Ueber Beziehungen zwischen der chemischen Constitution gewisser organischer Verbindungen und ihrer physiologischen Bedeutung für die Pflanze. Landw. Versuchsstat. Bd. 21. (1878) S. 116 ff.

5. Nicht assimilirbar sind Kohlenoxyd und Acetaldehyd.

Aus den bisher referirten Untersuchungen erhellt, dafs in Bezug auf die sogenannten »organischen« Körper eine beträchtliche physiologische Verschiedenheit obwaltet, sofern einige derselben die Kohlenstoff-Ernährung der Pilze zu unterhalten vermögen, andere nicht. Aus der Arbeit von STUTZER dürfte als wichtigstes Ergebnifs hervorzuheben sein, dafs zwei der einfachsten organischen Säuren, Ameisensäure und Oxalsäure, nicht assimilirbar sind.

In den Untersuchungen von NÄGELI^{*)} finden wir die gleiche Aufgabe, welche auch STUTZER sich gestellt hatte, mit reichhaltigerem Materiale in Angriff genommen. NÄGELI stellt die Frage ganz allgemein so: »Aus welchen Verbindungen vermögen die Pilze Kohlenstoff zu entnehmen, um ihre Substanz zu vermehren«? Hierbei hebt NÄGELI zunächst hervor, dafs, wenn eine Verbindung nicht ernährt, die Ursache davon nicht nothwendig in ihrer chemischen Constitution zu liegen brauche. Unlösliche Verbindungen sind als Nährstoffe jedenfalls ausgeschlossen; aber auch sehr schwer lösliche sind vielleicht darum ausser Stande, eine Trockengewichtsvermehrung des Pilzes herbeizuführen, weil der Pilz in gleicher Zeit mehr Substanz durch Oxydation und Ausscheidung verliert, als ihm zufließt. Endlich kommt auch die Giftigkeit der Substanzen in Betracht. Dennoch hebt NÄGELI mit besonderem Nachdruck die chemische Constitution sowohl der ernährenden als der nicht ernährenden Verbindungen hervor; nach seinen Versuchen vermögen die meisten in Wasser löslichen Kohlenstoffverbindungen als Kohlenstoffquelle den Pilzen zu dienen; eine Ausnahme machen Ameisensäure und Harnstoff, Oxalsäure und Oxamid. Hieraus folgert NÄGELI:

1. dafs »assimilirbare« Kohlenstoffverbindungen die Gruppe CH_2 oder CH enthalten müssen; die CH Gruppe ernährt aber nur dann, wenn zwei oder mehrere C Atome, an denen H hängt, unmittelbar mit einander verbunden sind; daher möge es

^{*)} Ernährung der niederen Pilze durch Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen. Sitzungsbericht der bayerischen Akad. v. 5. Juli 1879.

kommen, daß Methylamin und Benzoefäure ernähren, Ameisensäure und Methylalkohol aber nicht assimiliert werden können.

2. Daß der Kohlenstoff nicht assimiliert werden kann, wenn er nicht unmittelbar an H hängt, sondern an einem anderen Grundstoffe, wie im Cyan, dem Harnstoff, in der Oxalsäure.

Im Anschluß hieran weist NÄGELI darauf hin, wie bei der sehr verschiedenen Ernährungstüchtigkeit der verschiedenen Kohlenstoffverbindungen es nahe gelegt wird, »daß Verbindungen am leichtesten assimiliert werden, welche bereits eine Atomgruppe besitzen, wie sie die zu bildende Substanz bedarf, und daß eine Verbindung um so weniger ernährt, je unvollständiger sie diese Gruppe enthält«. NÄGELI neigt zu der Annahme, daß die »in dem ersten Assimilationsproduct [der Pilze] enthaltene Atomgruppe aus zwei oder eher drei unmittelbar mit einander in einer Kette zusammenhängenden C Atomen, an denen unmittelbar sowohl H als O Atome befestigt sind, bestehen muß, und daß durch Verdoppelung daraus zunächst eine 4 oder 6 C Atome enthaltende Gruppe sich bildet.« Damit im Zusammenhang soll die von NÄGELI gefundene Thatfache stehen, daß Verbindungen mit *einem* C Atom schwierig (Methylamin) oder gar nicht (Ameisensäure) assimiliert werden, »daß mit der steigenden Zahl der unmittelbar zusammenhängenden C Atome die Assimilation besser von statten geht« (Asparagin, Leucin); ferner verhält sich nach NÄGELI die Gruppe CH_2OH unter übrigen gleichen Umständen günstiger als CH_3 ; Verbindungen mit mehreren C Atomen der C Gruppen, die durch N oder O verbunden sind, sollen nicht besser ernähren, als solche, in denen die Gruppe nur einmal vorhanden ist (Trimethylamin nicht besser als Methylamin).

Es war nöthig, das theoretische Hauptergebnis, zu welchem NÄGELI durch seine Untersuchungen gelangte, hier möglichst vollständig aufzunehmen; in Bezug auf andere werthvolle und wichtige Gedanken muß auf die Originalabhandlung verwiesen werden; nur angedeutet mag noch werden, daß NÄGELI als ein ferneres wichtiges Moment für die größere oder geringere Assimilirbarkeit einer Verbindung ihre Widerstandsfähigkeit gegen Zersetzungen betrachtet.

Auf die sehr bedeutenden Schwierigkeiten, welche der sicheren Feststellung einer Scala der »Ernährungstüchtigkeit« oder »Assimilationsfähigkeit« der verschiedenen Kohlenstoffverbindungen entgegenstehen, weist NÄGELI selbst hin; mir scheinen diese Schwierigkeiten noch grösser zu sein, als NÄGELI annimmt, denn mir ist es in verschiedenen Versuchsreihen nicht gelungen, einen constanten quantitativen Nährwerth für gewisse Verbindungen zu ermitteln. In den später anzuführenden eigenen Untersuchungen habe ich daher von derartigen quantitativen Bestimmungen gänzlich Abstand genommen. Nur auf einen Punkt möchte ich noch mit NÄGELI hinweisen, nämlich auf die verhältnissmässig so überraschende Wirkung des Zuckers; dieselbe scheint mir darauf hinzudeuten, dass es in der Kohlenstoffassimilation auch der Pilze sich in erster Linie immer um die Synthese eines Kohlenhydrats als Ausgangspunkt aller weiteren Stoffbewegung handelt und dass das Wachsthum des Pilzes am besten von Statten geht, wenn demselben ein fertiges Kohlenhydrat als Nährstoff dargeboten wird. Von NÄGELI werden übrigens andere Gründe als der soeben geltend gemachte für die leichte Assimilirbarkeit des Zuckers angeführt.

Es mögen nun aus dem speciellen Theile der Arbeit von NÄGELI die Verbindungen hier genannt werden, welche sich als Kohlenstoffquelle für Pilze entweder tauglich oder untauglich erweisen.

- a) Die Pilze können nach NÄGELI*) und LÖW den Kohlenstoff assimiliren aus: Citronensäure, Essigsäure, Rohrzucker, Glycerin, Asparagin, Milchsäure, Bernsteinsäure, *Phenol*, *Salicylsäure*, Aethylalkohol, *Methylamin***), *Acetamid*, *Propylamin*, *Isobutylalkohol*, *Pyrogallol*, Gerbsäure, Chinasäure.
- b) Die Pilze können nach NÄGELI und LÖW den Kohlenstoff *nicht* assimiliren aus: Oxalsäure, *Humin*, *Harnstoff*, Ameisensäure, *Oxamid*; *Aethylamin*, *Trimethylamin*.

* Diejenigen Verbindungen, bei denen die betreffende Eigenschaft von NÄGELI zuerst festgestellt worden, sind durch *passende* Schrift hervorgehoben.

**) Die Amine wurden als salzsaure Verbindungen angewandt.

c) Zweifelhafte Resultate ergaben: Butterfäure, Baldrianfäure (als Ammonverbindungen) Glycocoll, Acetanilid, Salicin.

Wenn ich nunmehr zur Mittheilung der Resultate meiner eigenen Studien übergehe, so muß ich zuvörderst Ziel und Methode der Untersuchung mit wenigen Worten erläutern. Die Frage, welche ich mir gestellt, war die gleiche, welche auch meine Vorgänger auf diesem Gebiete, STUTZER und NÄGELI, zu beantworten suchten: aus welchen Verbindungen vermag *Penicillium glaucum*, beziehungsweise andere Pilze, Kohlenstoff zu assimiliren, und in welchem Zusammenhange steht die Assimilationsfähigkeit einer Substanz mit ihrer chemischen Structur?

Von quantitativen Bestimmungen der Ernteergebnisse habe ich abgesehen, weil die dafür erforderliche Mühe keineswegs durch genügend übereinstimmende Resultate aufgewogen wird. Ob z. B. *Penicillium* durch eine Lösung ernährt wird oder nicht, entschied ich einfach dadurch, ob bei möglichster Gleichartigkeit der Bedingungen das eine Mal in einer mit Sporen besäten Nährlösung üppige Rasen bis zur Sporenbildung sich entwickelten oder nicht. Ob ein Nährstoff mehr oder weniger günstig ernährt, habe ich nur dann besonders betont, wenn eine ganz eklatante Differenz bestand, wenn in einem Fall in einigen Tagen oder Wochen üppige Entwicklung erfolgte, in anderen erst nach längerer Zeit wenige langsam wachsende Pilzflocken erschienen. Die Annahme ist wohl naheliegend, daß nur in ersterem Falle die Substanz selbst, oder ihre nächsten Spaltungsproducte direkt als Baustoff für die Synthese der Componenten des Protoplasma verbraucht werden konnten, während im zweiten Falle erst durch intermediäre Proceßse aus dem angewandten Körper wirkliche Nährstoffe hergestellt werden konnten. Immerhin ist diese letztere Kategorie von Verbindungen für die Assimilation des Kohlenstoffs indirekt verwertbar, während eine dritte Gruppe, darin der Kohlenfäure entsprechend, in keiner Weise durch den Einfluß der Pilze zu einem Nährstoff umgestaltet werden kann.

Bei dieser Limitation der Aufgabe gestaltete sich das Beobachtungsverfahren sehr einfach. Mit Hilfe von *reinstem* destillirtem Wasser

ward eine mineralische Nährlösung aus Ammoniumphosphat, Kaliumphosphat, Magnesiumsulphat, Calciumchlorid in der von NÄGELI meist benutzten procentischen Zusammensetzung oder etwas verdünnter hergestellt, dann die zu untersuchende Kohlenstoffverbindung hinzugefügt; in allen Fällen, wo Säuerung, beziehungsweise Neutralisirung nöthig war, d. h. wo die Substanz nicht schon selbst sauer reagierte, wurde sehr verdünnte Schwefelsäure, die sich mir für Pilzculturen am günstigsten erwies, tropfenweise hinzugefügt, so daß immer schwach schwefelsaure, seltener neutrale Nährlösungen in Anwendung kamen. Als Culturegefäße dienten kleine Bechergläser von 50 *mm* Höhe und 40 *mm* im Lichten; sie wurden zur Hälfte zunächst mit der mineralischen Nährlösung angefüllt, was einem Flüssigkeitsvolum von ungefähr 30 cm entspricht, dann die Kohlenstoffverbindung zugesetzt, letztere, wo es nöthig war, durch Kochen gelöst, Sporen von *Penicillium* darin ausgefät, hierauf das Glas durch einen Deckel von Filtrirpapier gegen Staub geschützt und das so beschickte Gefäß bei Zimmertemperatur in einem verschlossenen, also dunklen Schranke aufbewahrt.

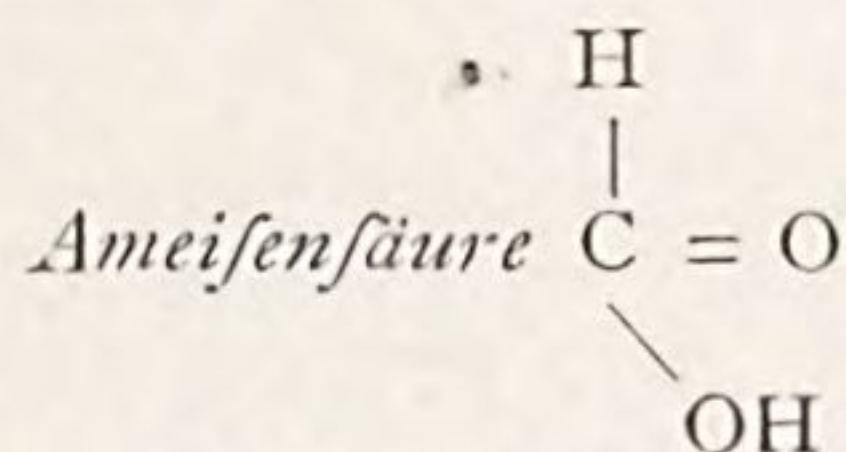
Von entscheidender Wichtigkeit war für das zu erlangende Ergebniss der Versuche natürlich die Reinheit der Reagentien. Alle von mir angewandten Kohlenstoffverbindungen — mit Ausnahme von wenigen, bei welchen ich es meist ausdrücklich bemerkte — sind aus der rühmlichst bekannten Fabrik des Herrn KAHLBAUM in Berlin bezogen worden. Wo es nöthig erschien, wurden dieselben, soweit ihre Beschaffenheit es erlaubte, umkrySTALLISIRT. Es bleibt nun aber zu bemerken, daß auch wiederholtes UmkrySTALLISIREN oder DESTILLIREN keine vollkommene Garantie für die *absolute* Reinheit eines Körpers gewährt. Ich glaube eine sichere Gewähr dafür, daß in einem Versuche wirklich die Eigenschaft der angewandten Substanz zu einem reinen Ausdruck gelangt, dadurch gewonnen zu haben, daß ich die auf ihr Ernährungsvermögen zu prüfenden Stoffe in möglichst geringer Menge anwandte. War dann noch eine Verunreinigung vorhanden, so wurde die verunreinigende Substanz durch äußerste Verdünnung unschädlich gemacht. Zu diesem Behufe setzte ich zu dem für den

einzelnen Versuch angewandten Volum Nährlösung von 30 *ccm* 2 Tropfen, also 0,1 bis 0,2 *ccm* einer zu prüfenden Flüssigkeit, z. B. von Essigsäure, und von festen Körpern eine entsprechende Menge, also gegen 0,2 g, so daß durchschnittlich mit einer $\frac{1}{2}$ procentigen Lösung der betreffenden Kohlenstoffverbindung experimentirt wurde; bei sehr schwer löslichen Substanzen war die Verdünnung eine noch größere. Für einen Ersatz des verdunstenden Wassers wurde in geeigneter Weise Sorge getragen.

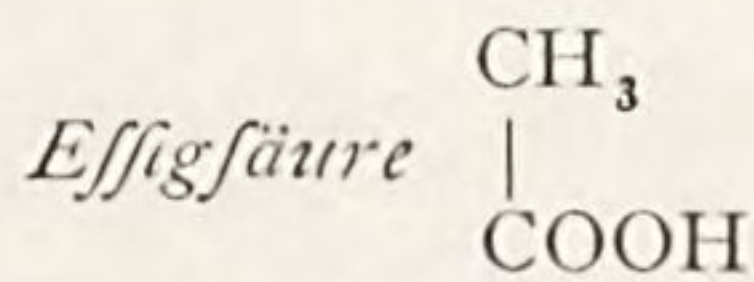
Bei meinen Untersuchungen ging ich von der Voraussetzung aus, daß nur Verbindungen, welche die Grundstoffe C, H und O oder C, H und N enthalten, assimilirbar sind, daß speciell der Kohlenstoff aus Verbindungen, welche nur C und H, oder C und O, oder C und N u. f. w. besitzen, nicht aufgenommen werden kann; demnach kamen nur Verbindungen der bezeichneten Beschaffenheit für mich in Frage, sind doch auch Kohlenwasserstoffe schon durch ihre Unlöslichkeit in Wasser zur Ernährung der Pilze ungeeignet. In der folgenden Zusammenstellung sind auch die älteren Beobachtungen von PASTEUR, ZÖLLER, STUTZER, NÄGELI mit aufgenommen worden, weil dadurch ein abgeschlossenes Bild der ganzen vorhandenen Untersuchungen gewährt wird; die fremden Beobachtungen sind gegen die meinigen durch kleinere Schrift hervorgehoben. Endlich bemerke ich noch, daß es mir practisch erschien, die Formeln der Verbindungen mit hierher zu setzen, bald mit mehr, bald mit weniger ausführlicher Angabe der Structur; in den meisten Fällen dürften ja nur gewisse Atomcomplexe als nähere Bestandtheile in Betracht kommen.

Carbonsäuren.

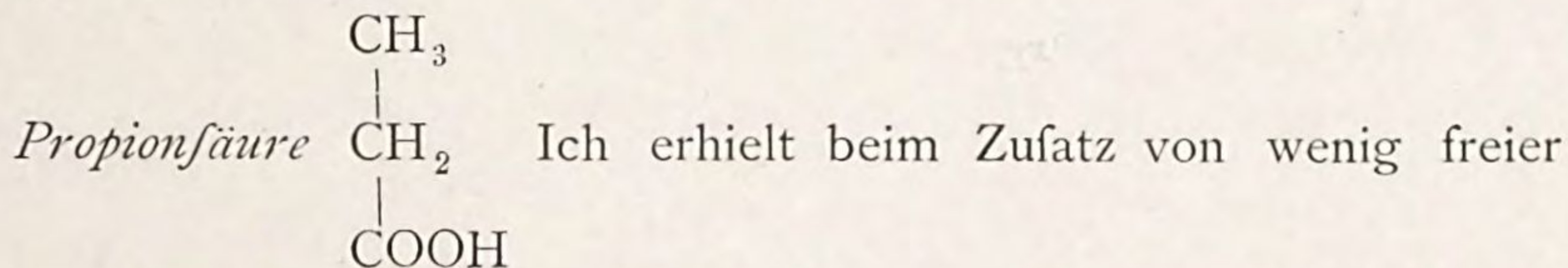
Ich beginne mit den kohlenstoffhaltigen Säuren, weil von diesen gewisse Glieder unzweifelhaft zur Ernährung der Pilze genügen, andere ebenso unzweifelhaft sich dazu als unfähig erweisen; es muß daher der Versuch gemacht werden können, schon innerhalb des Kreises der Carbonsäuren diejenigen Atomgruppen festzustellen, welche für den Aufbau der Constituenten des Protoplasma unerläßlich sind.



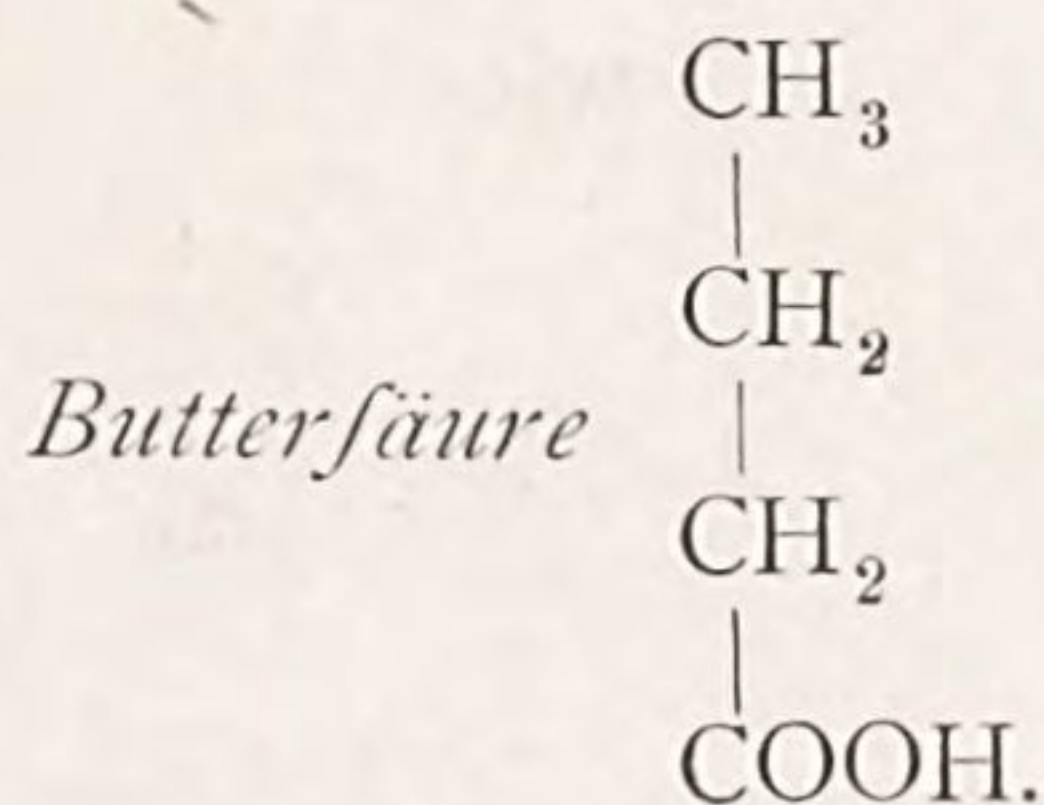
Nicht assimilierbar (STUTZER)



Assimilierbar (ZÖLLER)

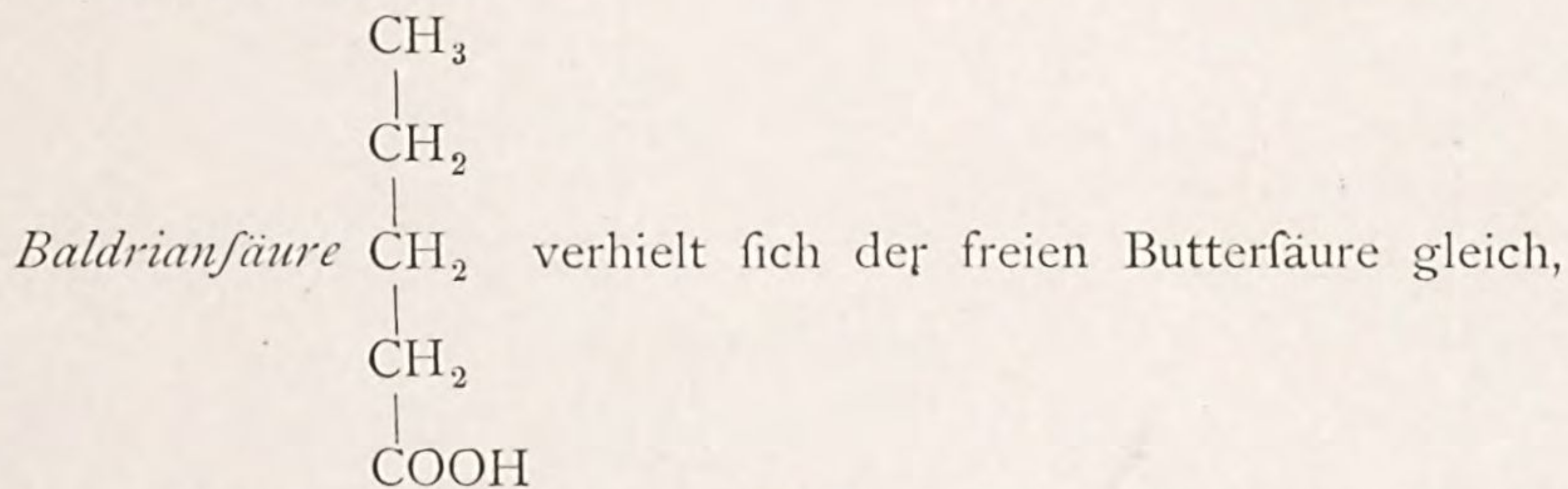


Säure zur Nährlösung keine Pilzentwicklung, wohl aber bei Verwendung von Ammoniumpropionat eine üppige Vegetation von Penicillium.



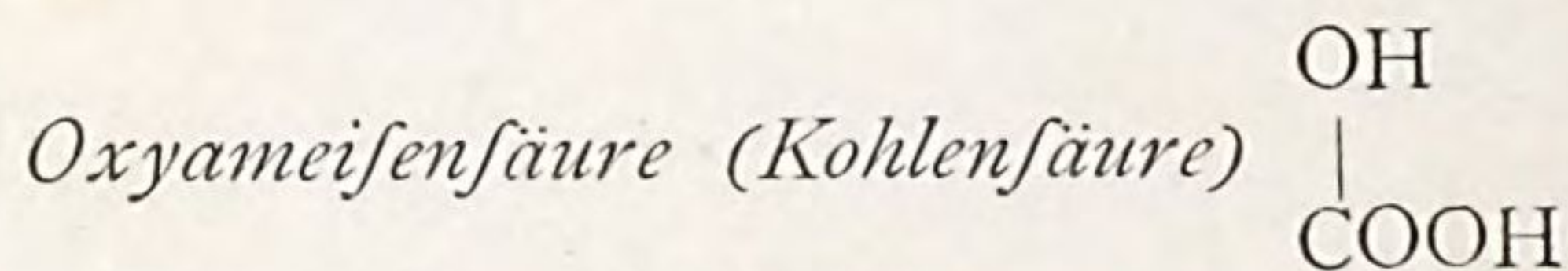
Nicht assimilierbar (STUTZER)

Ammoniumbutyrat dagegen gewährte eine reichliche Entwicklung von Penicillium.

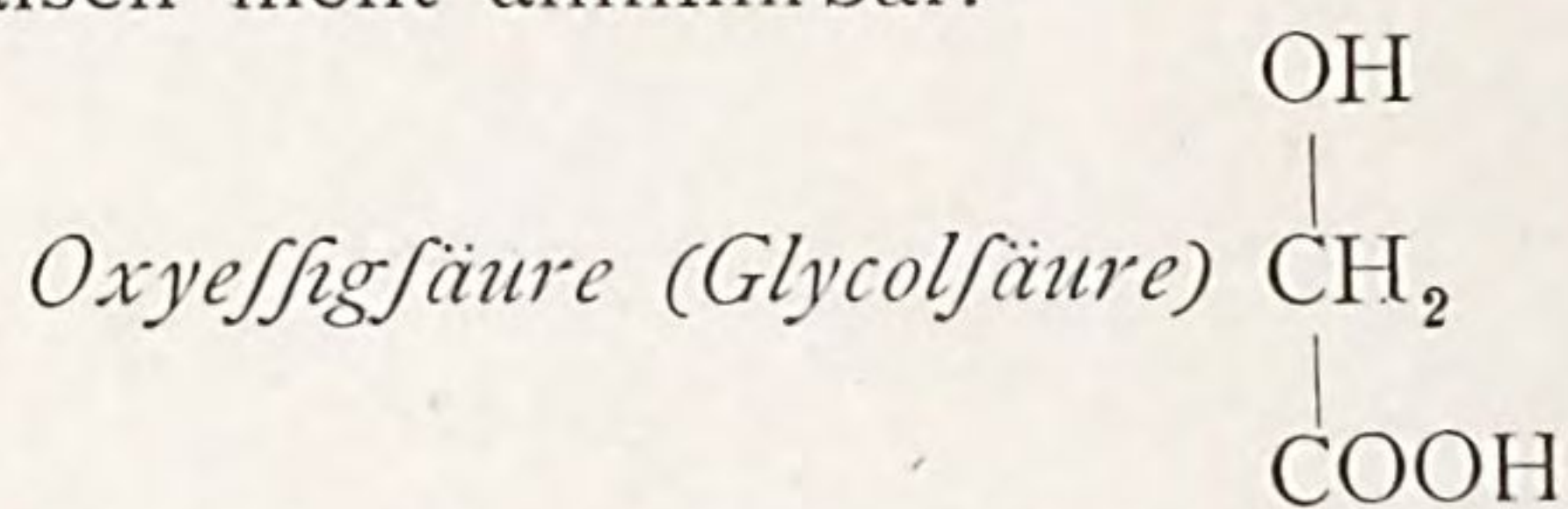


(STUTZER) während in Ammoniumvalerianat nach 7 Tagen sich Penicillium gut entwickelt hatte.

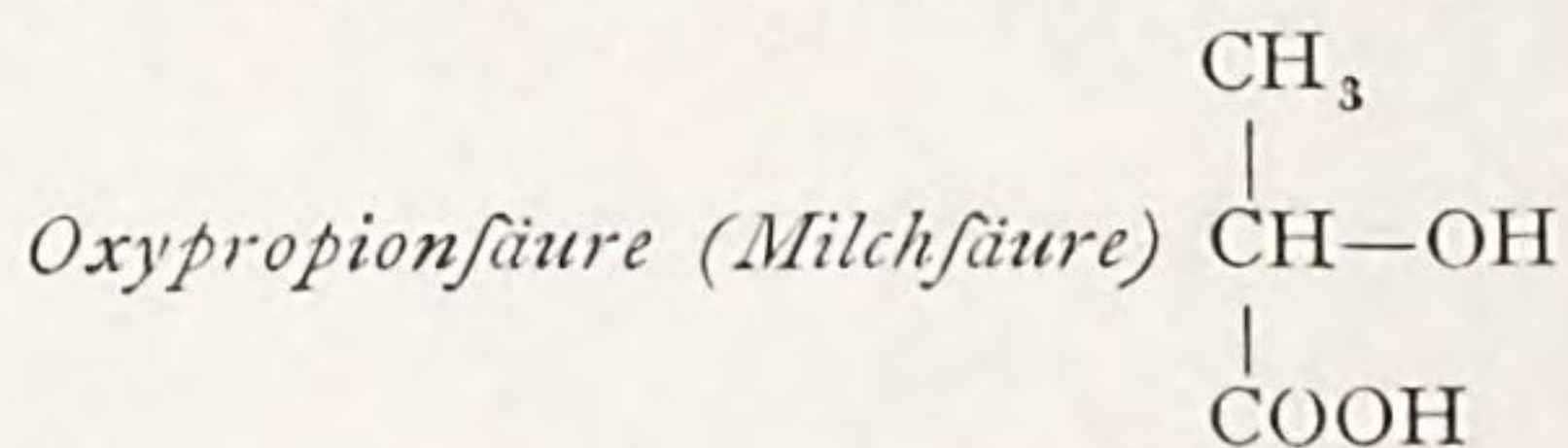
Capronsäure $\text{C}_6 \text{ N}_{12} \text{ O}_2$ verhält sich wie Buttersäure und Baldriansäure, wobei zu bemerken, daß dieselbe mit Wasser kaum noch mischbar ist; in Ammoniumcapronat dagegen nach 10 Tagen eine lebhafte Schimmelbildung.



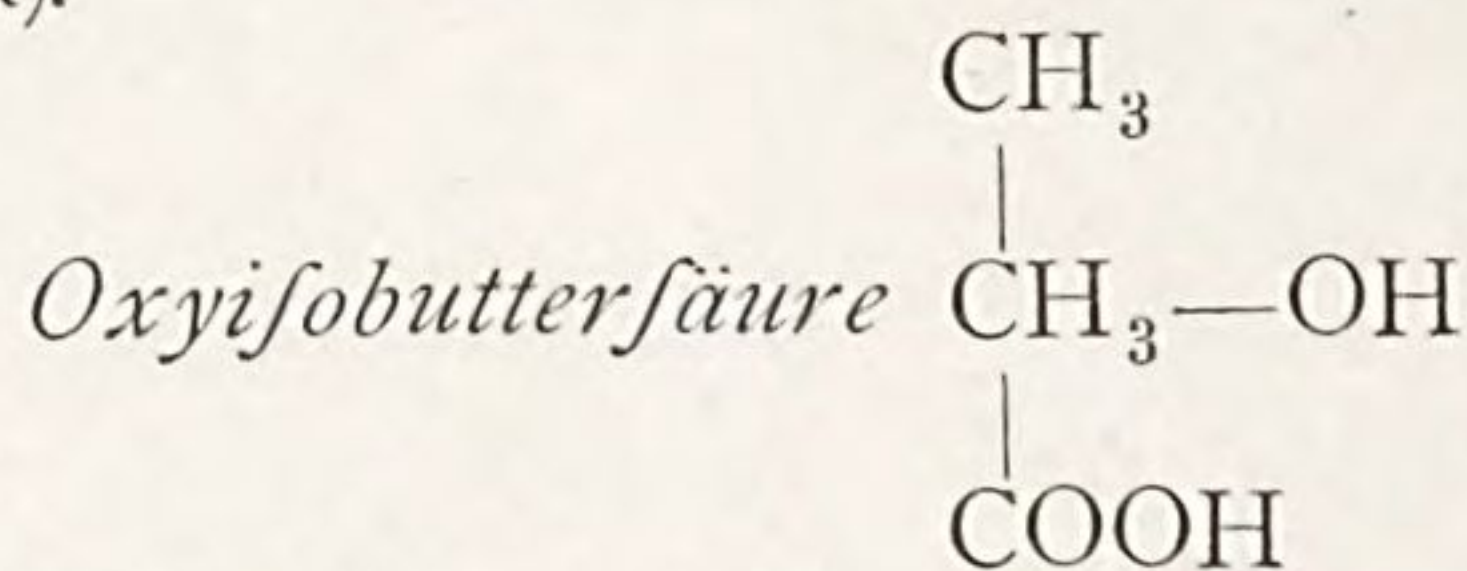
Bekanntermaßen nicht affimilirbar.



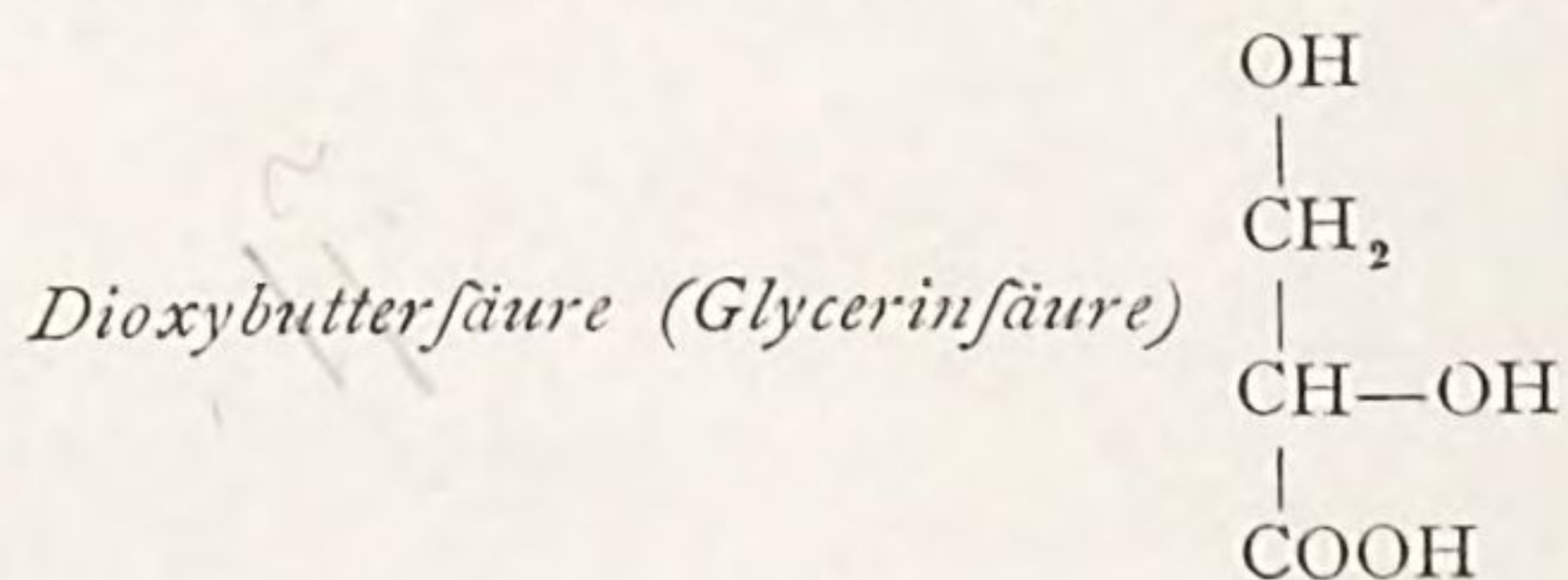
Angewandt als Calciumglycolat unter Zusatz einer Spur von Schwefelsäure; nach 7 Tagen starke Schimmelbildung.



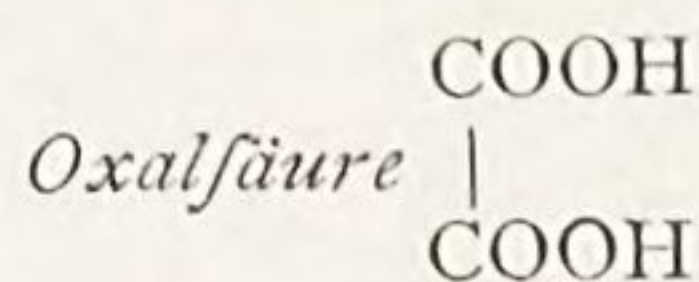
Affimilirbar (STUTZER).



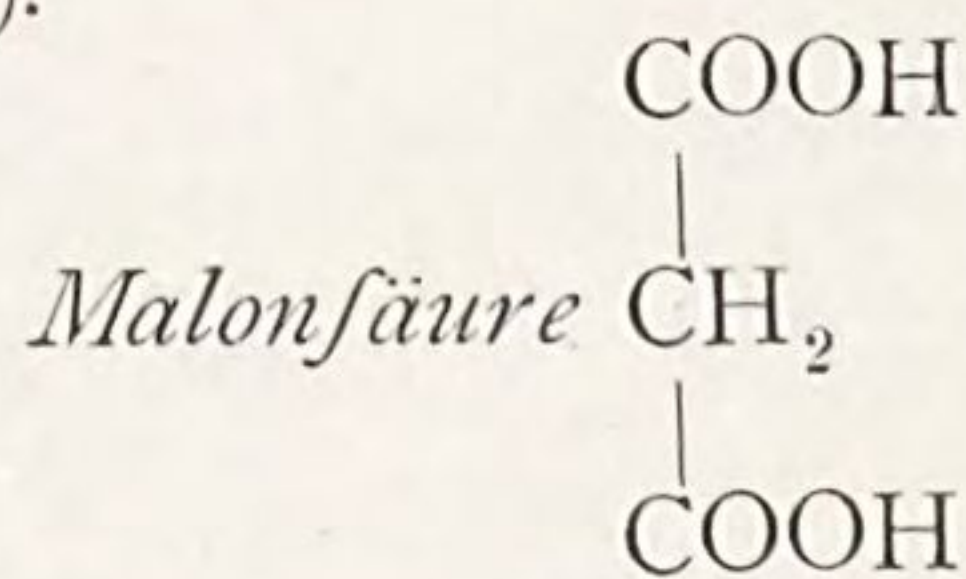
Am 6. Tage starke Pilzentwicklung.



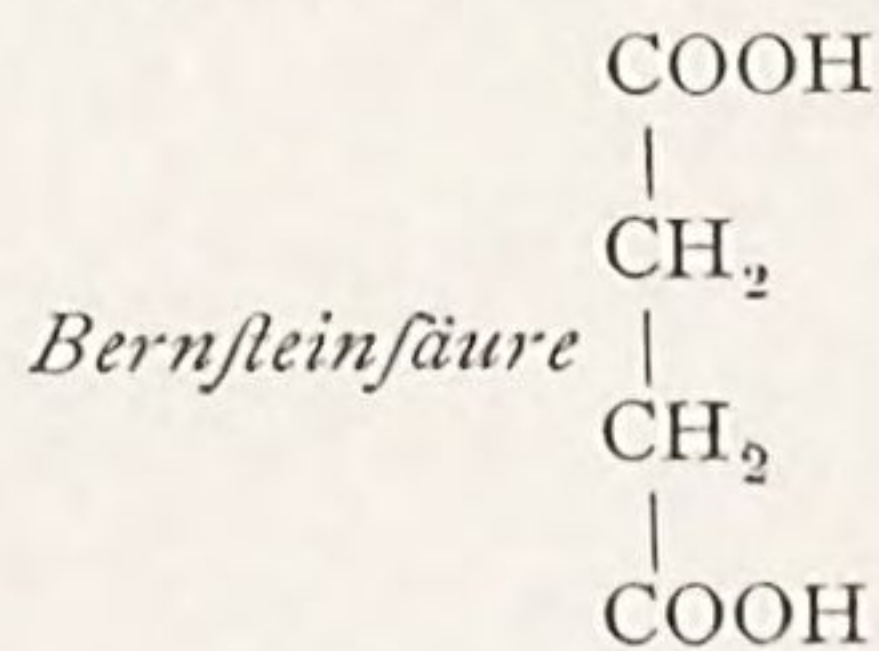
Affimilirbar (STUTZER).



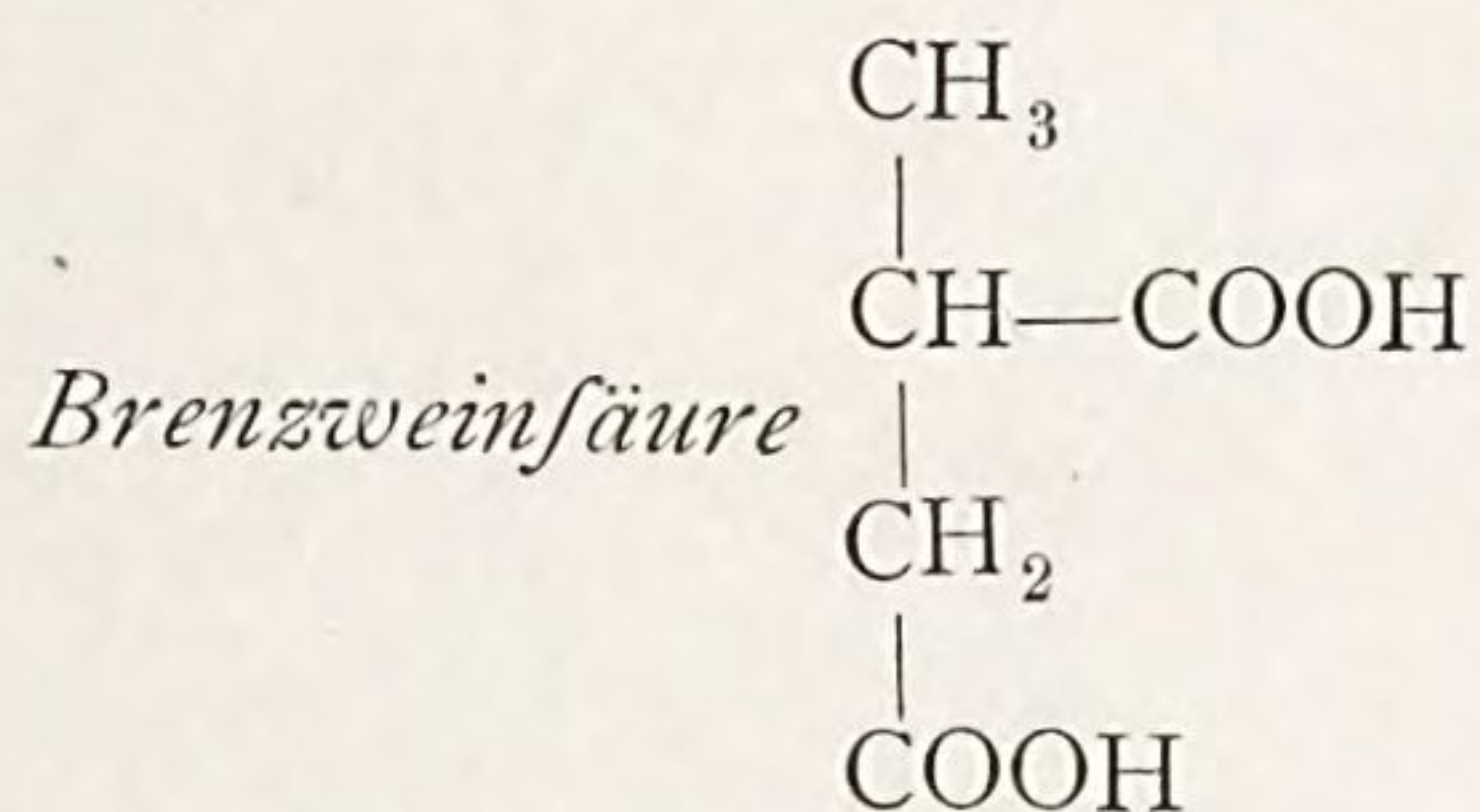
Nicht affimilirbar (STUTZER).



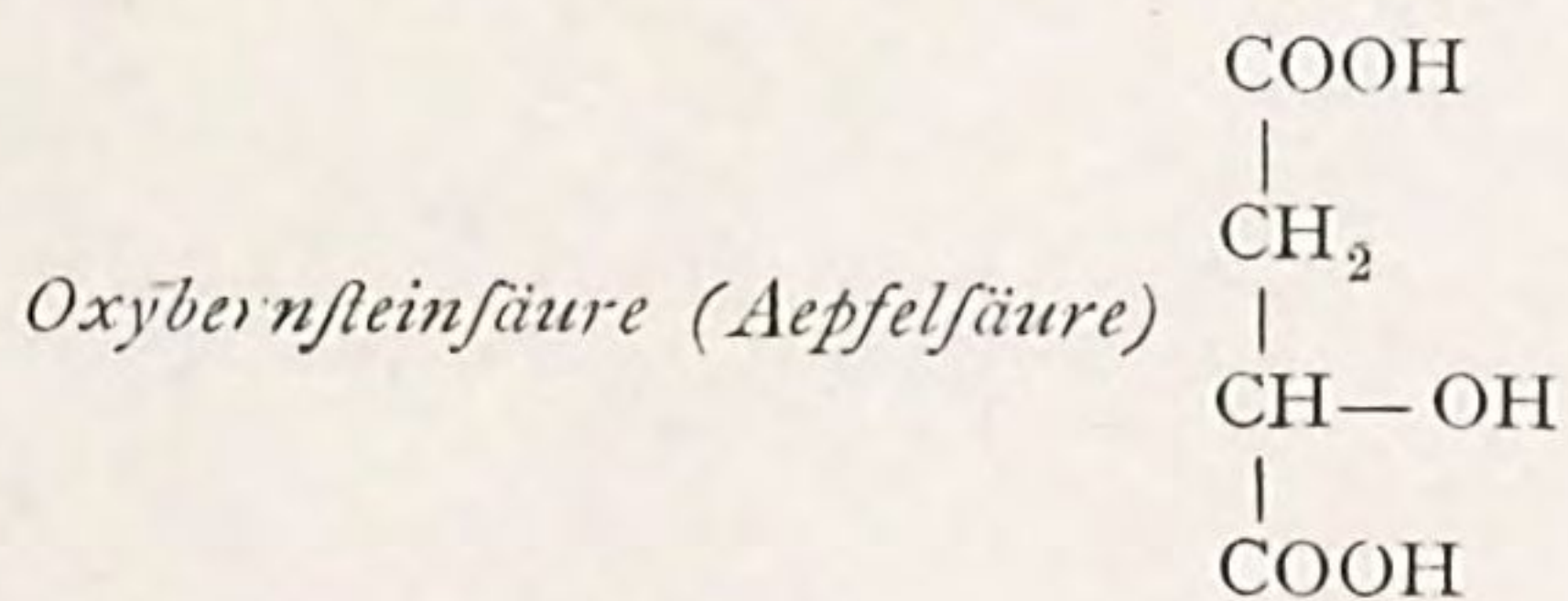
Nach 7 Tagen starke Schimmelbildung.



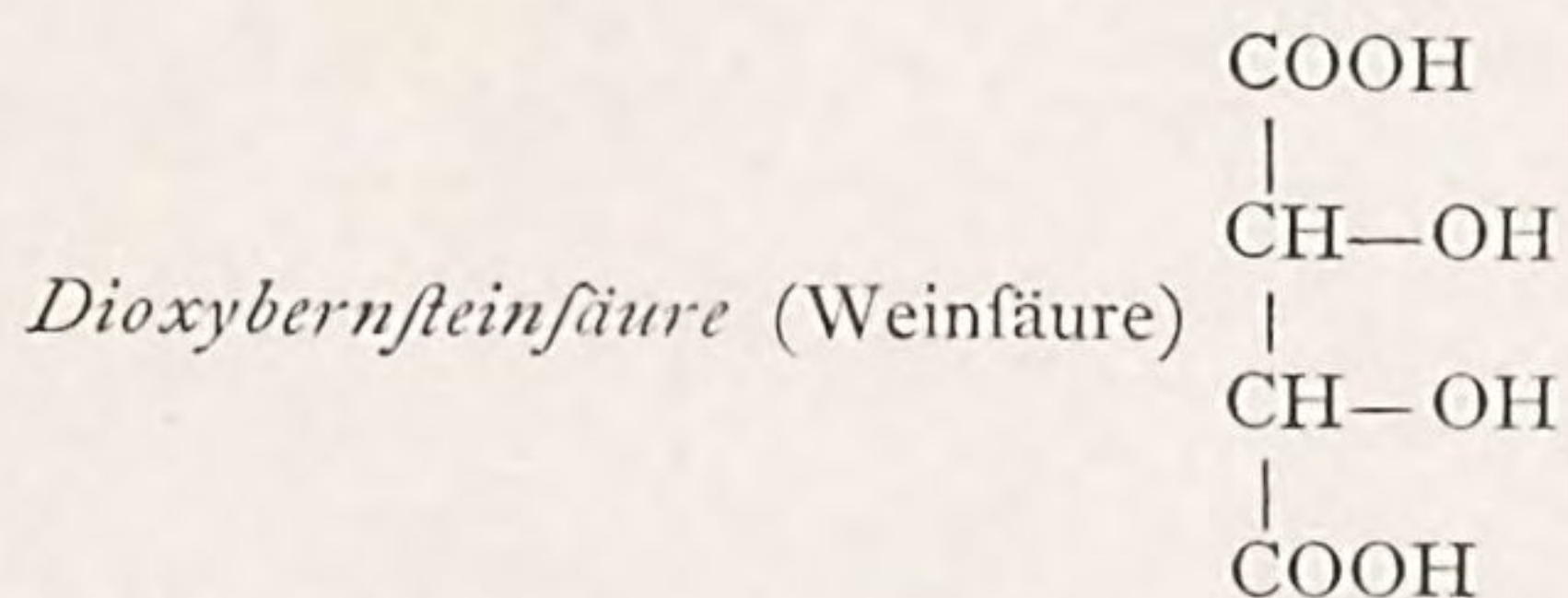
Affimilirbar (STUTZER).



Nach 6 Tagen starke Pilzentwicklung.



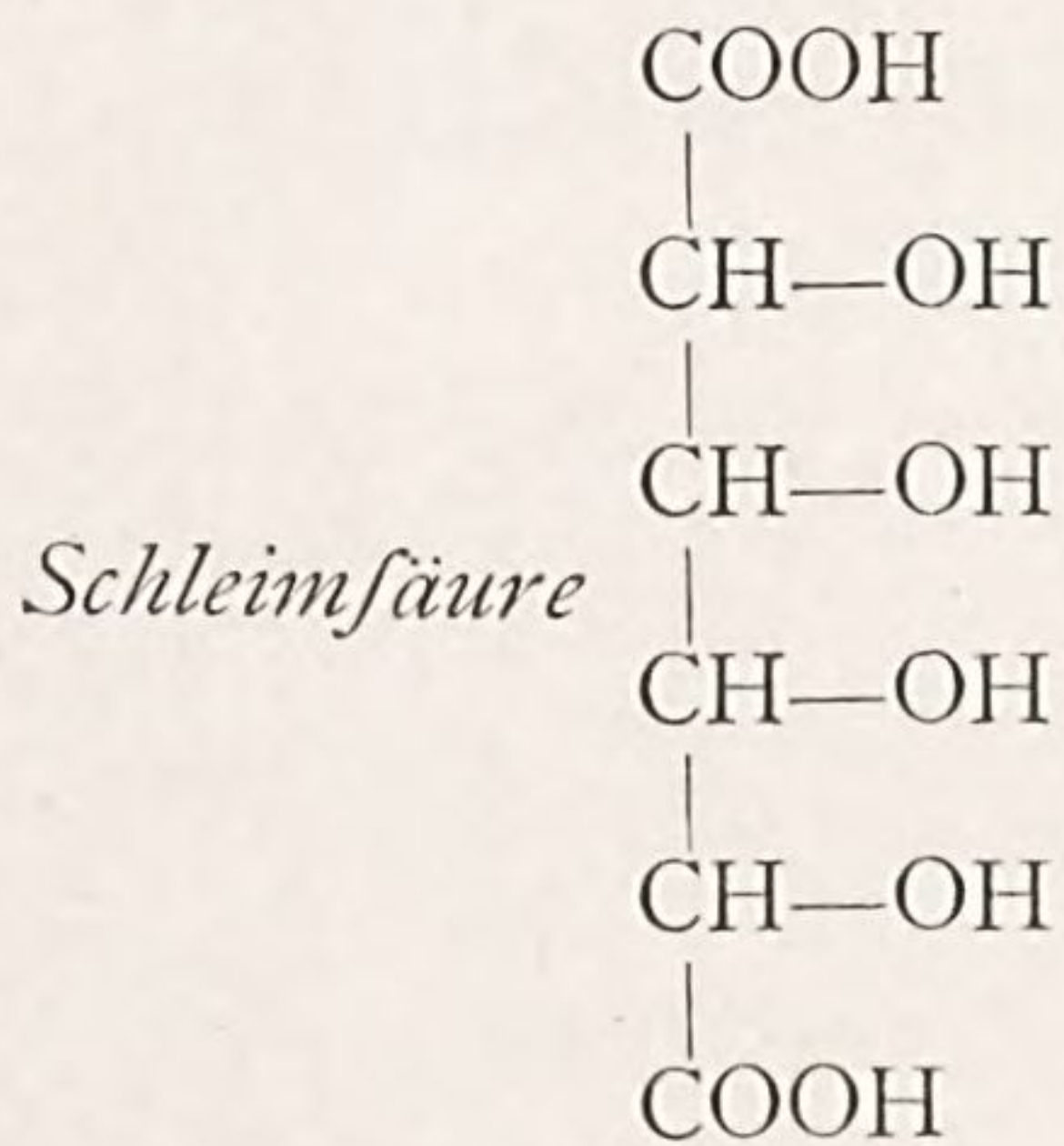
Affimilirbar (STUTZER).



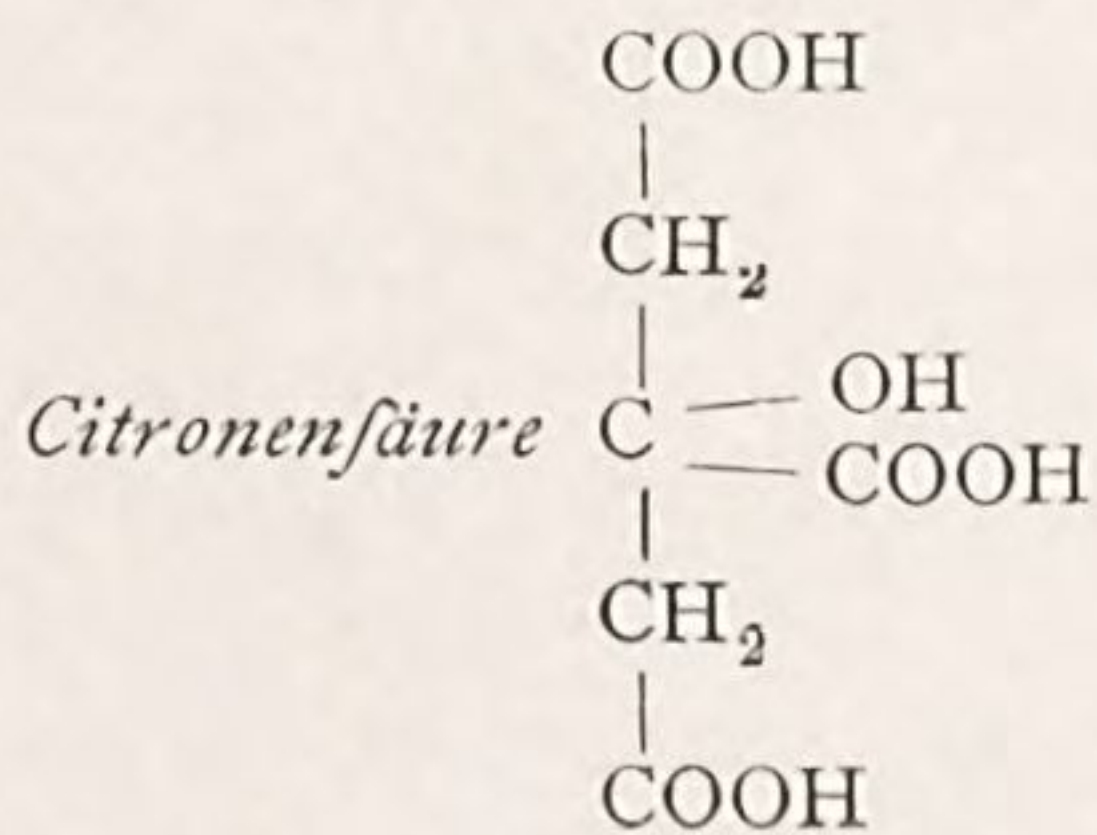
Affimilirbar (PASTEUR).

Traubensäure (2 Mol. Weinsäure).

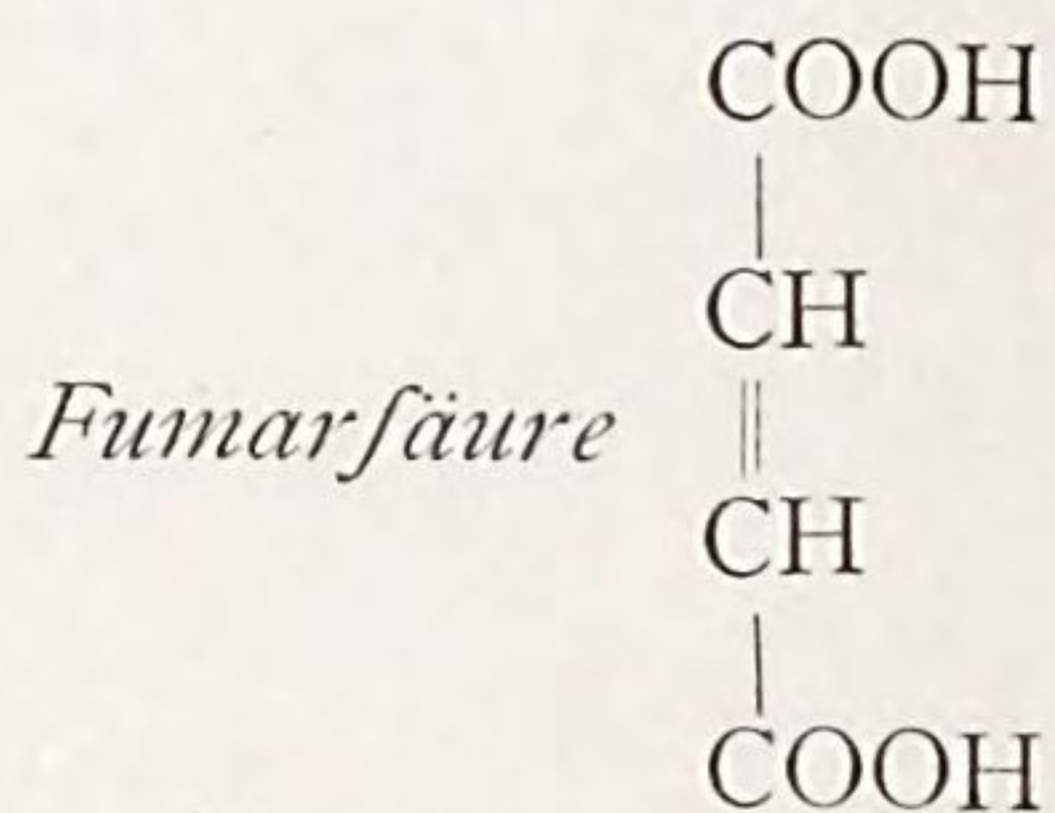
Affimilirbar (PASTEUR).



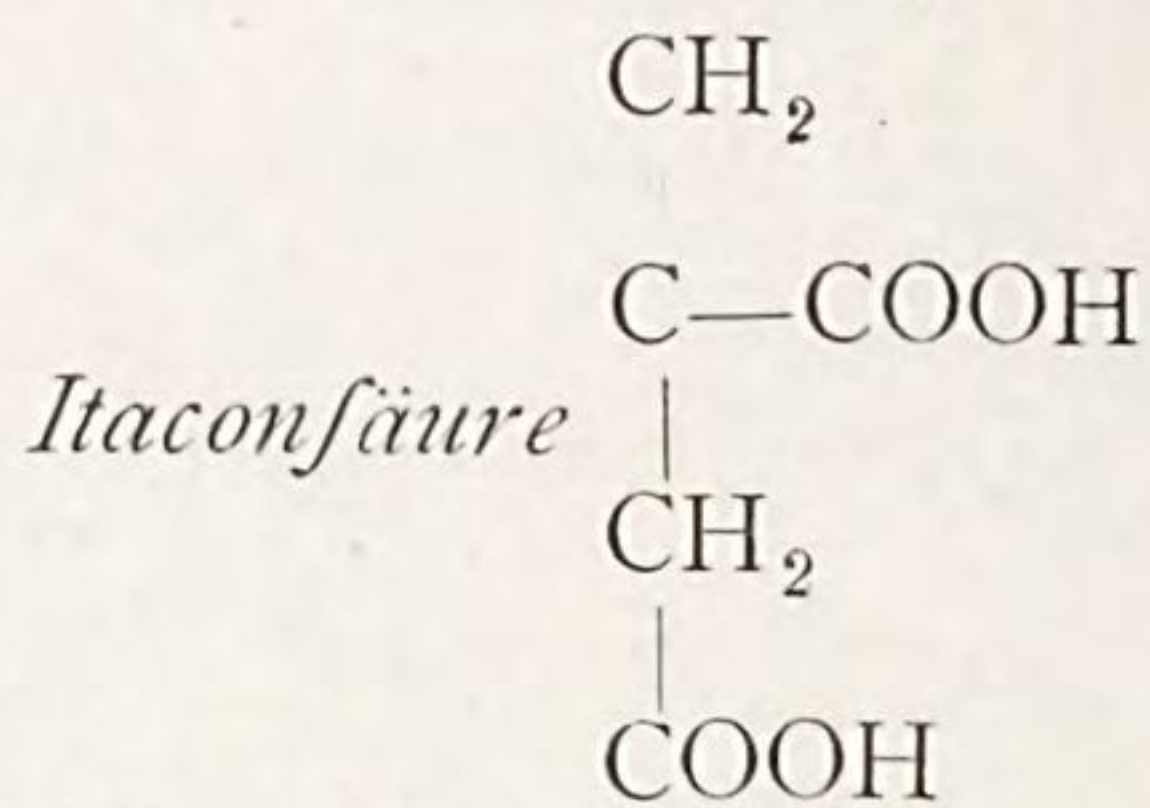
Nach 7 Tagen starke Pilzentwicklung.



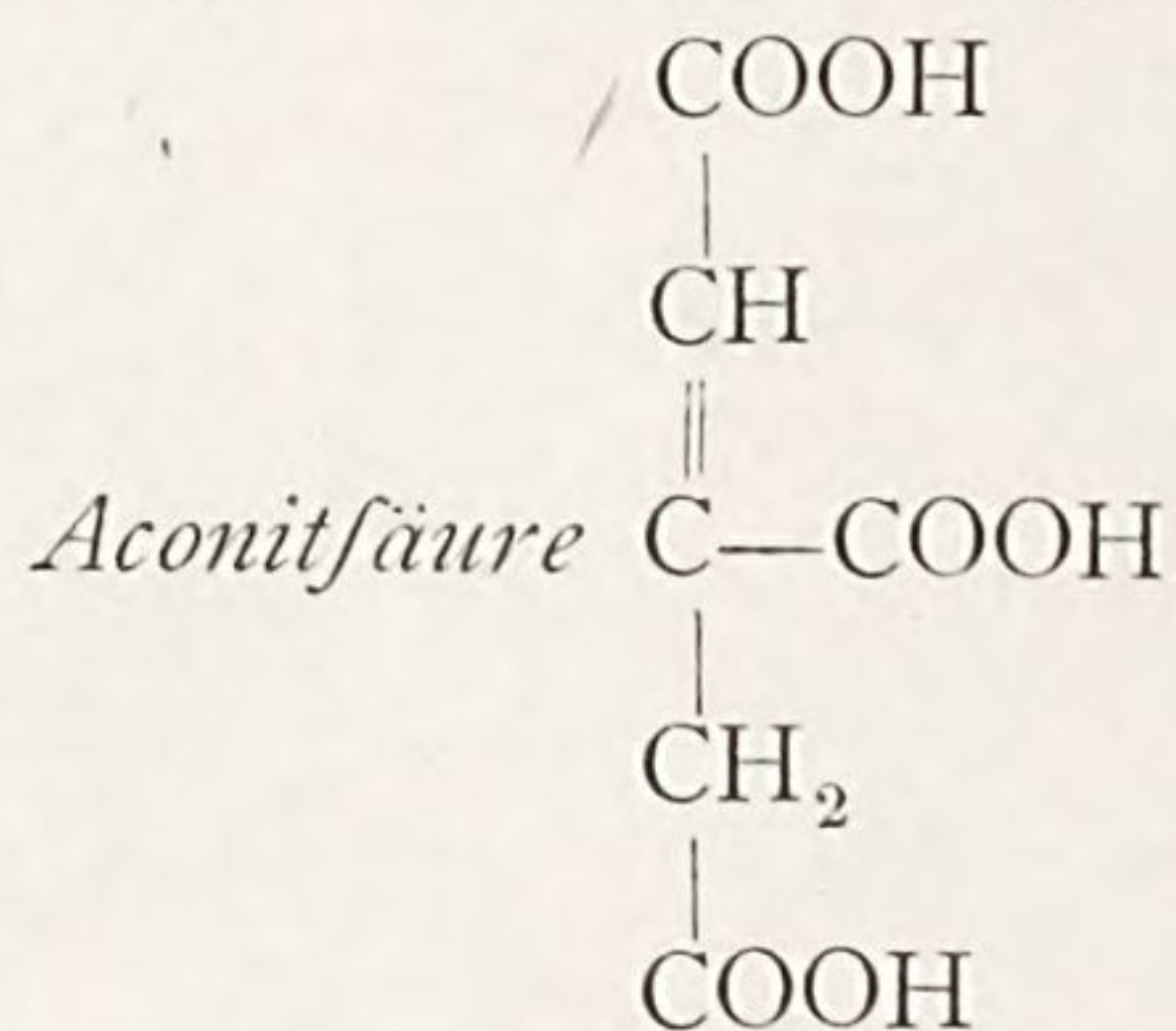
Affimilirbar (STUTZER).



Nach 6 Tagen starke Pilzentwicklung.



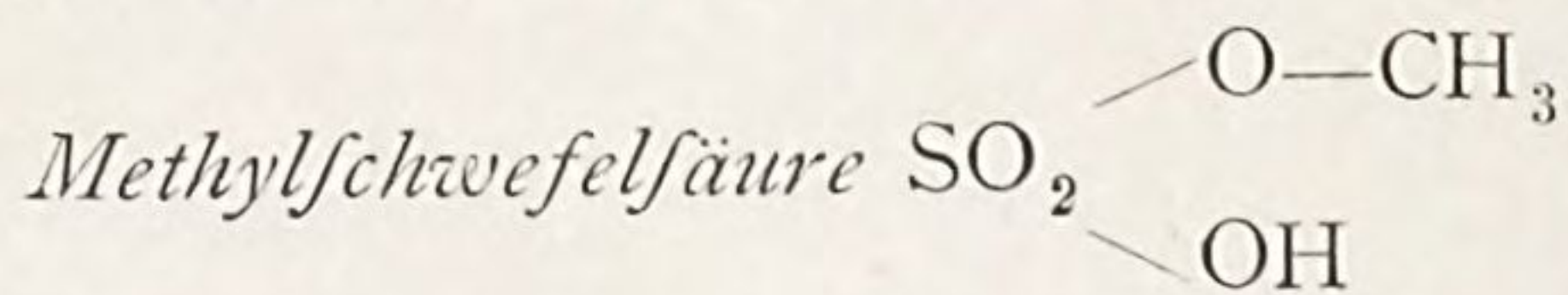
Nach 9 Tagen kräftige Pilzentwicklung.



Nach 6 Tagen starke Pilzentwicklung.

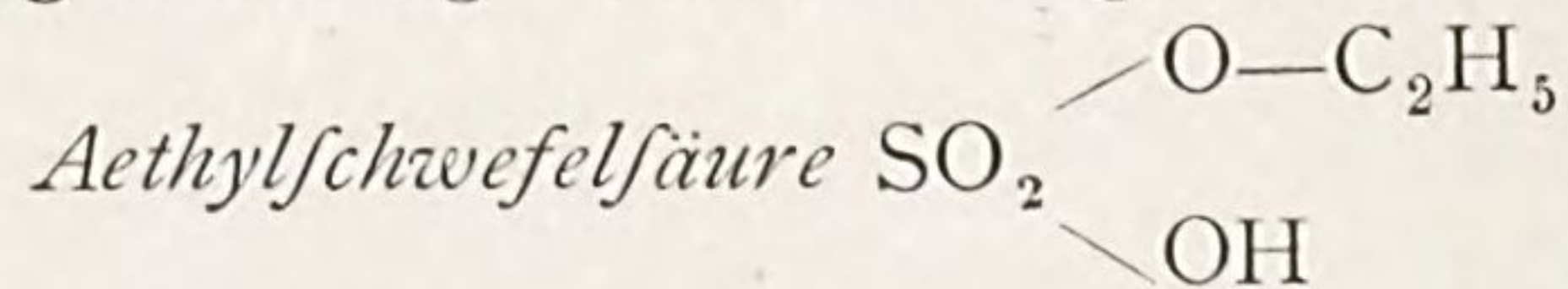


Nach 6 Tagen lebhafte Pilzentwicklung.



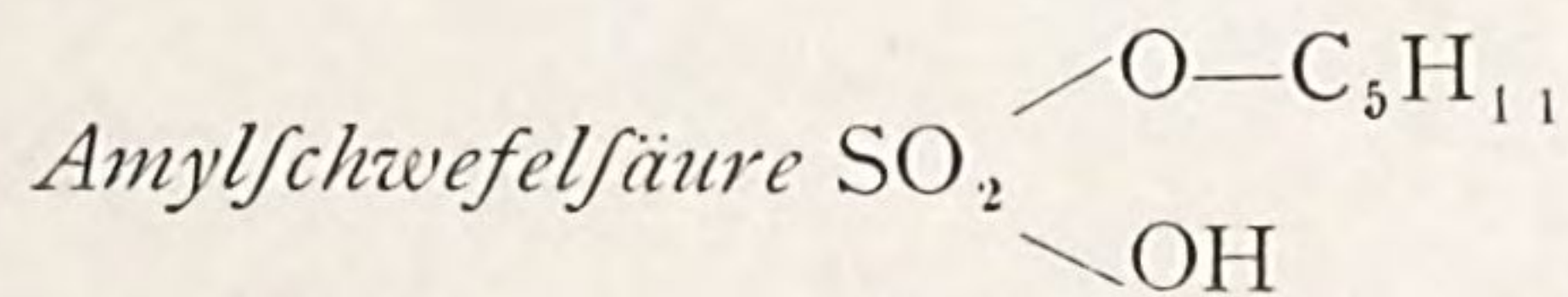
Als Kaliumfalz zugefetzt und durch eine Spur von Schwefelsäure angefäuert.

Nach 10 Tagen kräftige Schimmelvegetation.



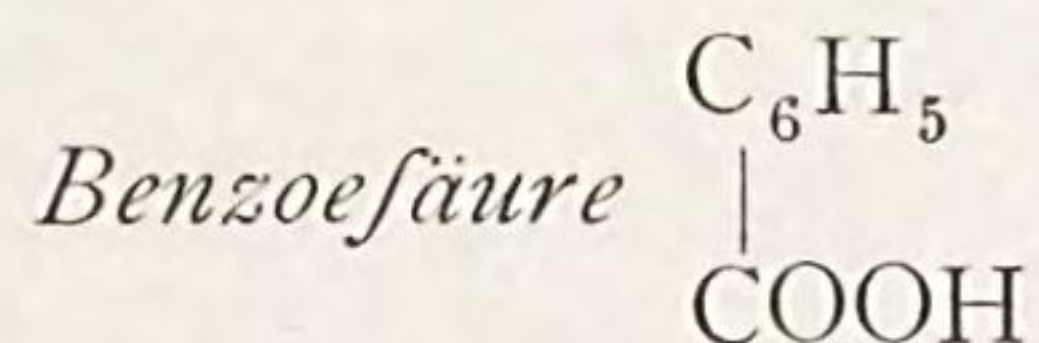
(Kaliumfalz).

Nach 14 Tagen kräftige Schimmelbildung.

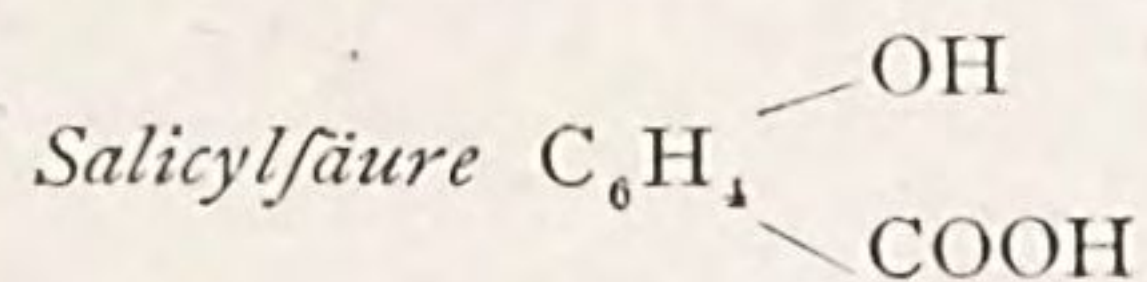


(Kaliumfalz).

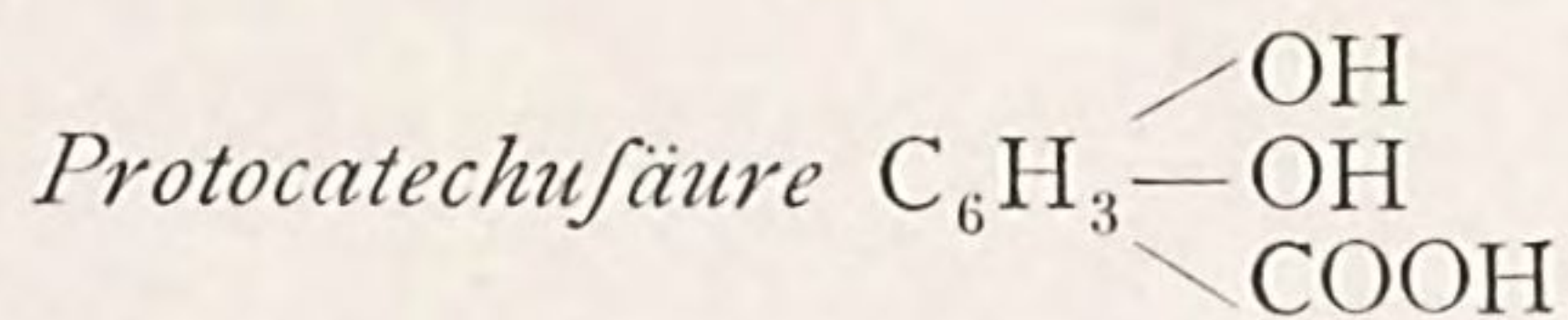
Nach 10 Tagen lebhafte Pilzentwicklung.



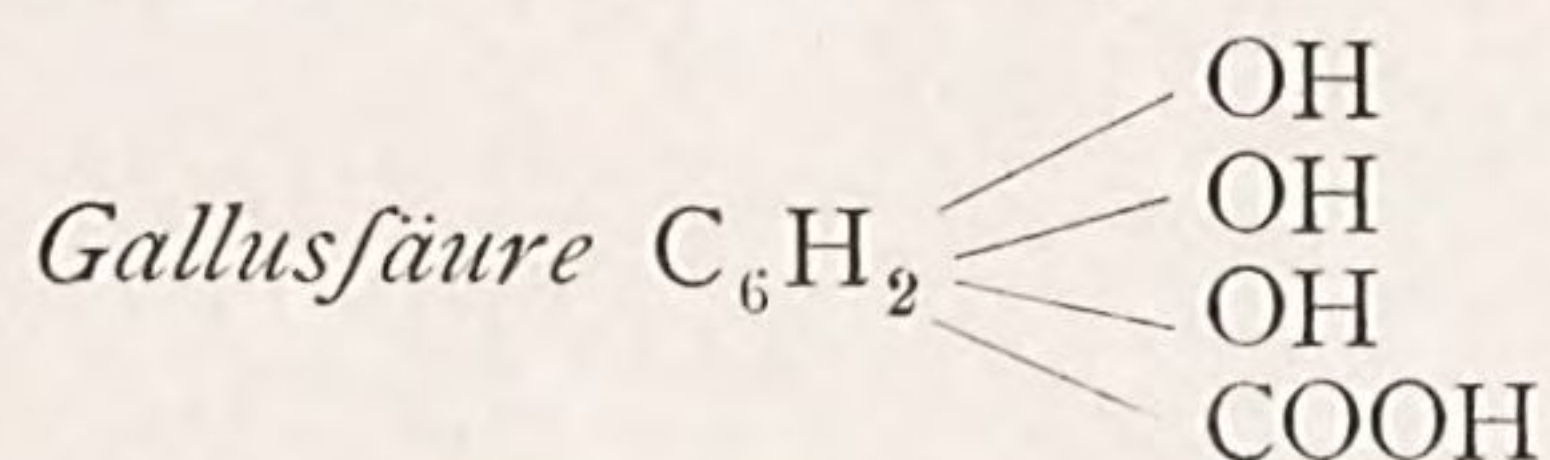
lieferte als Ammonfalz in 14 Tagen eine üppige Pilzentwicklung.



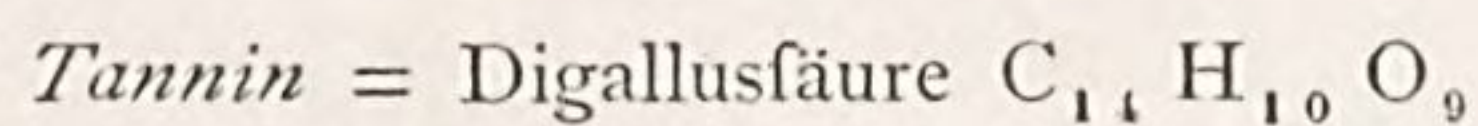
Ernährt (NÄGELI).



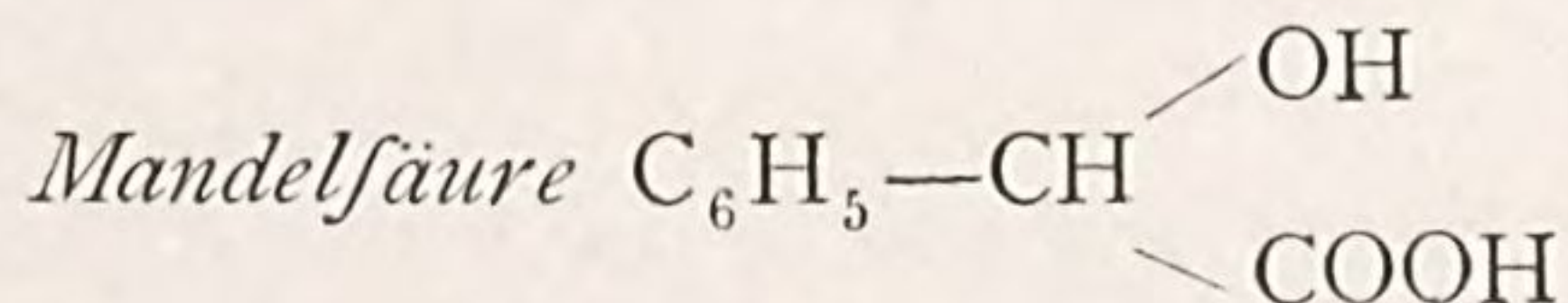
Nach 7 Tagen starke Pilzentwicklung.



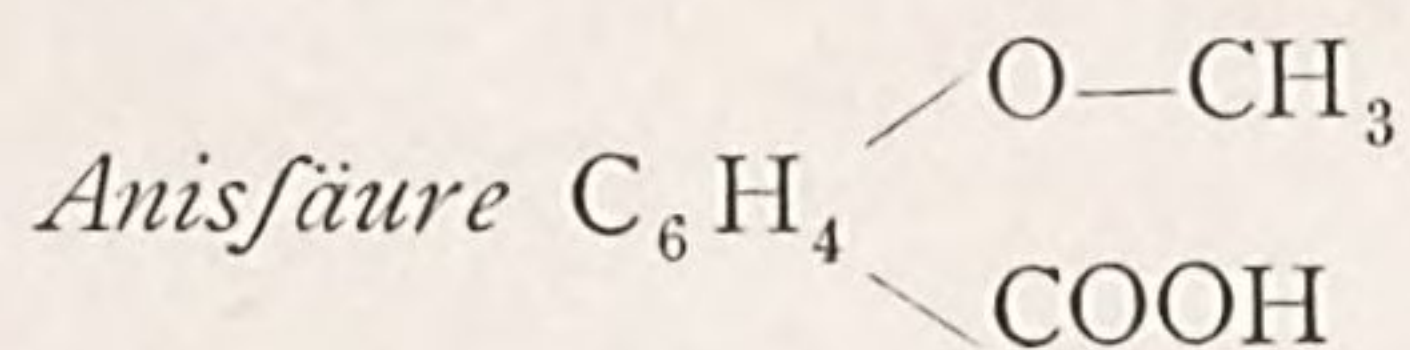
Nach 7 Tagen starke Pilzentwicklung.



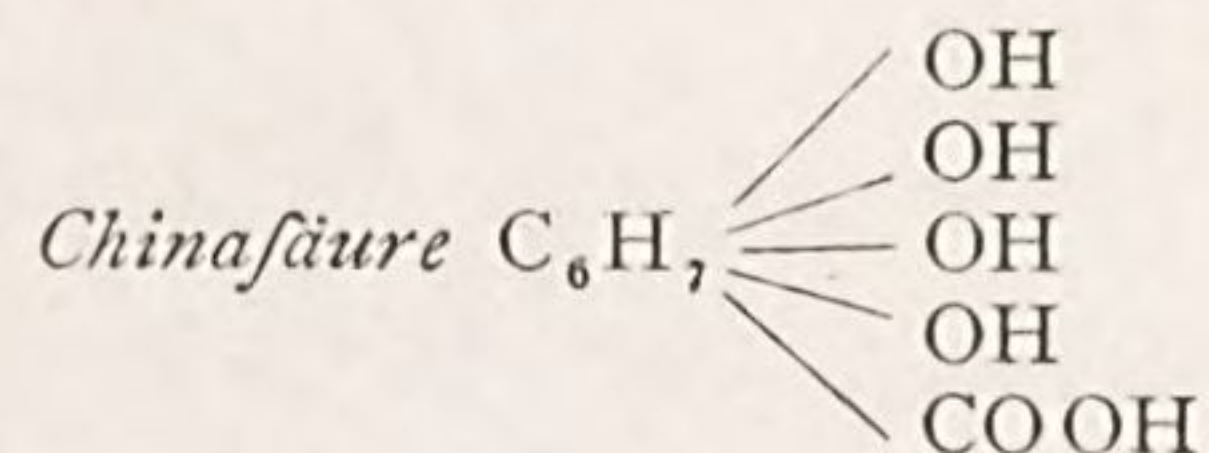
Ernährt (NÄGELI).



Nach 7 Tagen starke Pilzentwicklung.



Lieferte, wenn als freie Säure in der Nährlösung durch Kochen theilweise gelöst keinerlei Pilzvegetation; als Ammonfalz dagegen ergab es eine deutliche Pilzentwicklung.



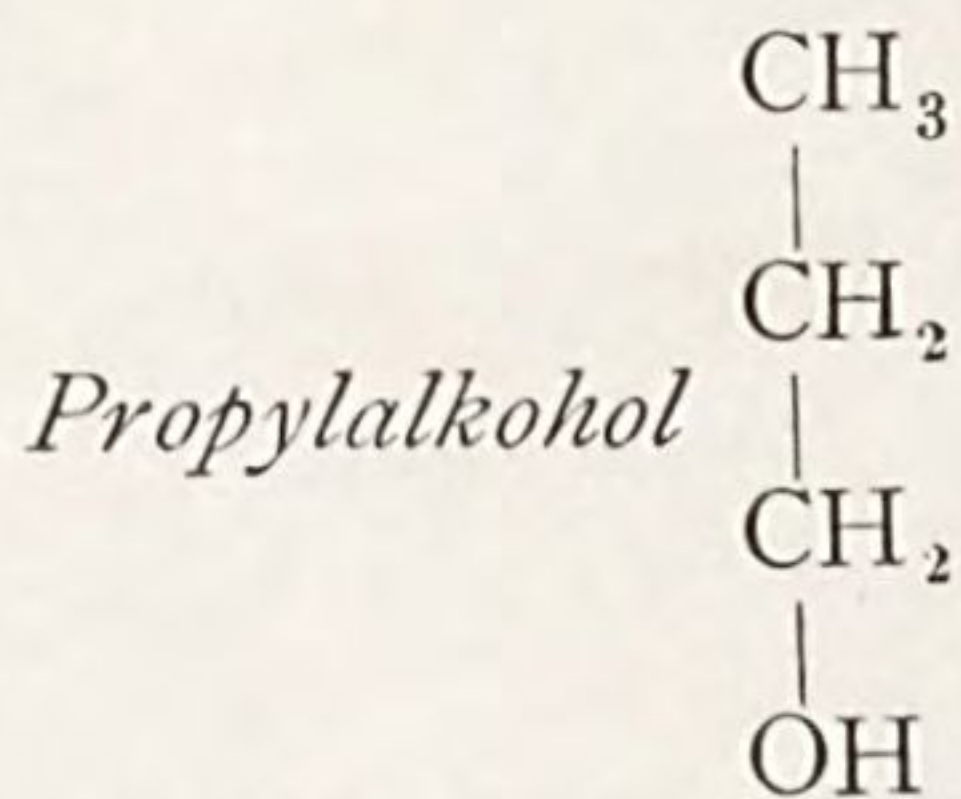
Ernährt (NÄGELI).

Alkohole.

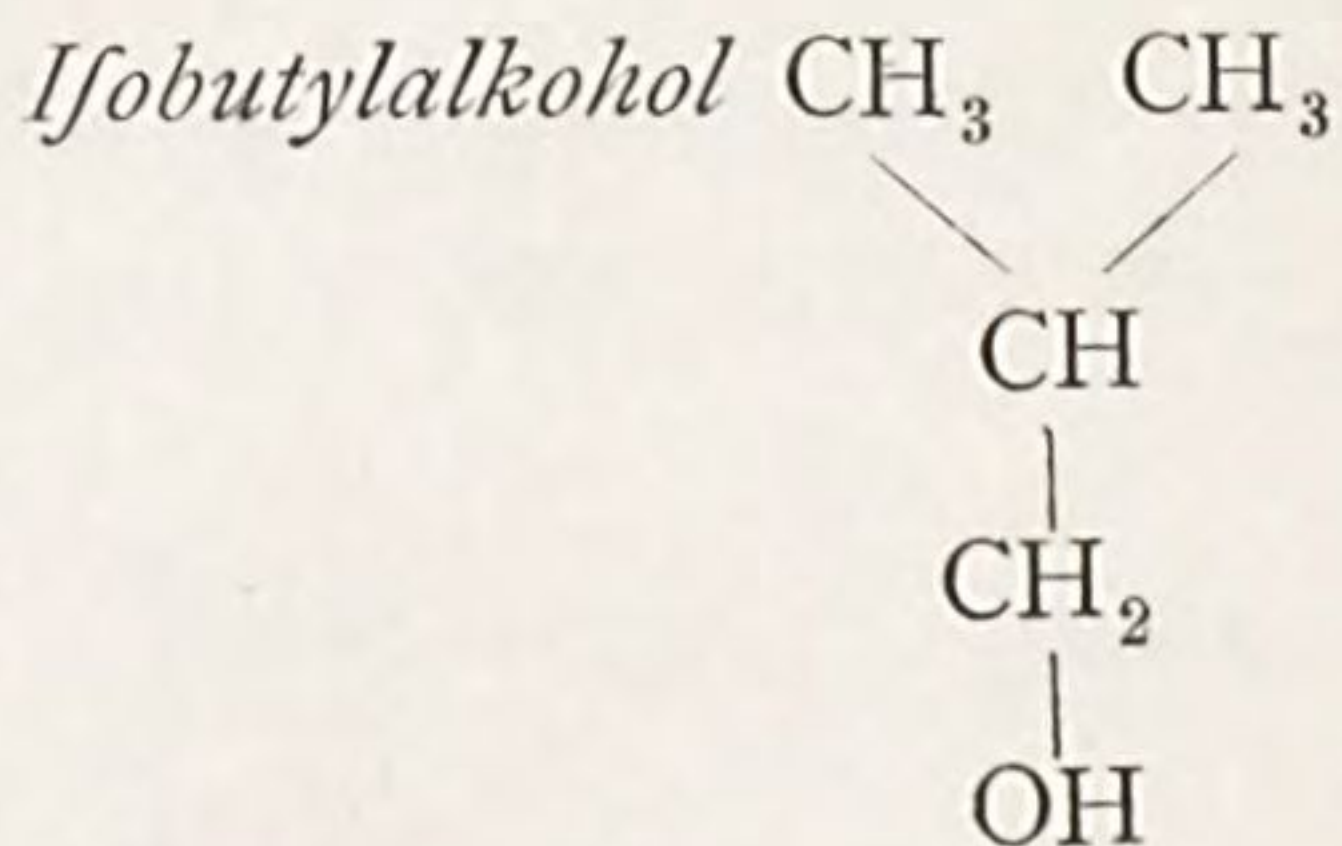
Methylalkohol $\text{CH}_3\text{—OH}$.

Die mit etwas Alkohol versetzte Nährlösung zeigte nach mehrwöchentlichem Stehen eine schwache Trübung durch Spaltpilze.

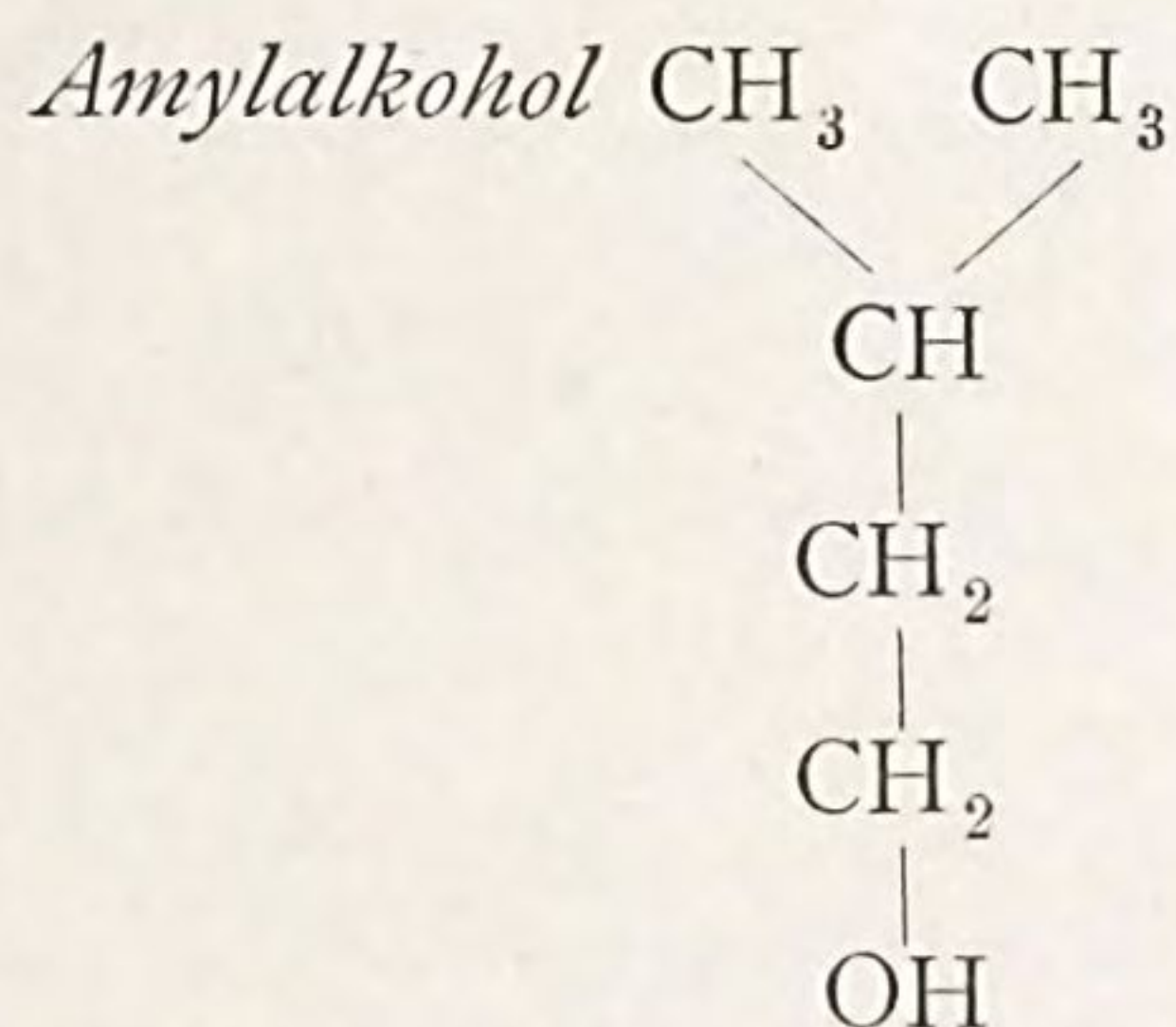
Aethylalkohol wirkt nach STUTZER ernährend; NÄGELI wandte denselben in Verbindung mit Harnstoff und Mineralsalzen an und bemerkt über das Ergebnis: »Ein Glas im Brütkasten zeigte mäßige Spaltpilzbildung mit faurer Reaktion, nachher eine dicke Schimmeldecke. Ein anderes Glas bei Zimmertemperatur ergab eine sehr reichliche Spaltpilzvegetation mit schwach alkalischer Reaktion«. Bei meinen Versuchen stellten sich zunächst Bakterien in Menge ein und erst nach längerer Zeit entwickelten die gleich anfänglich ausgefäulen Sporen dichte *Penicillium*rasen. Ich vermuthe, daß die Entwicklung des letzteren erst auf Kosten von Essigsäure stattfand, welche durch die Spaltpilze gebildet worden war.



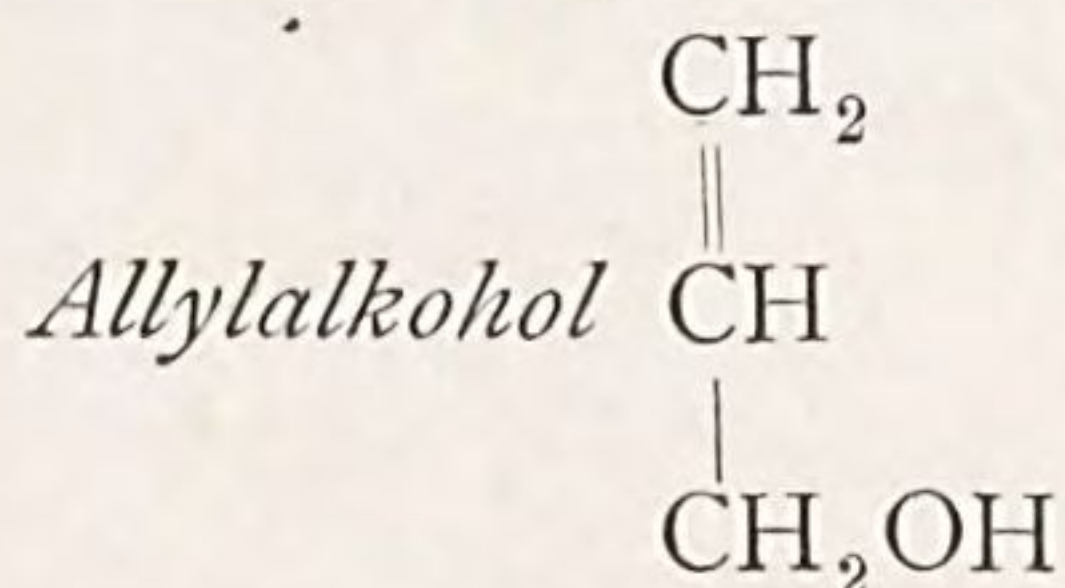
verhielt sich dem Aethylalkohol gleich; die Schimmelentwicklung, welche bei stärkerem Zusatz von Propionsäure nicht beobachtet wurde, ist vielleicht durch die allmähliche Bildung der Säure (die demnach höchst verdünnt zur Geltung kam) unter dem Einfluß der Spaltpilze erklärbar.



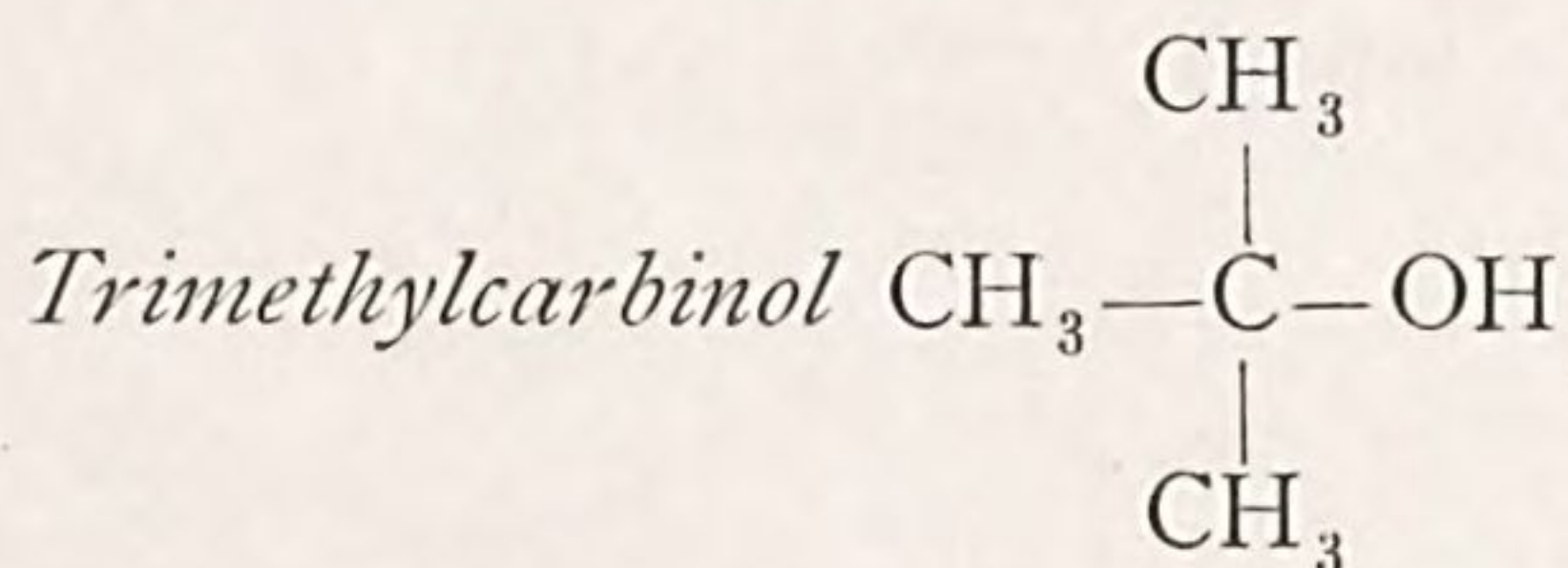
Zeigte nur eine starke Trübung durch Spaltpilze.



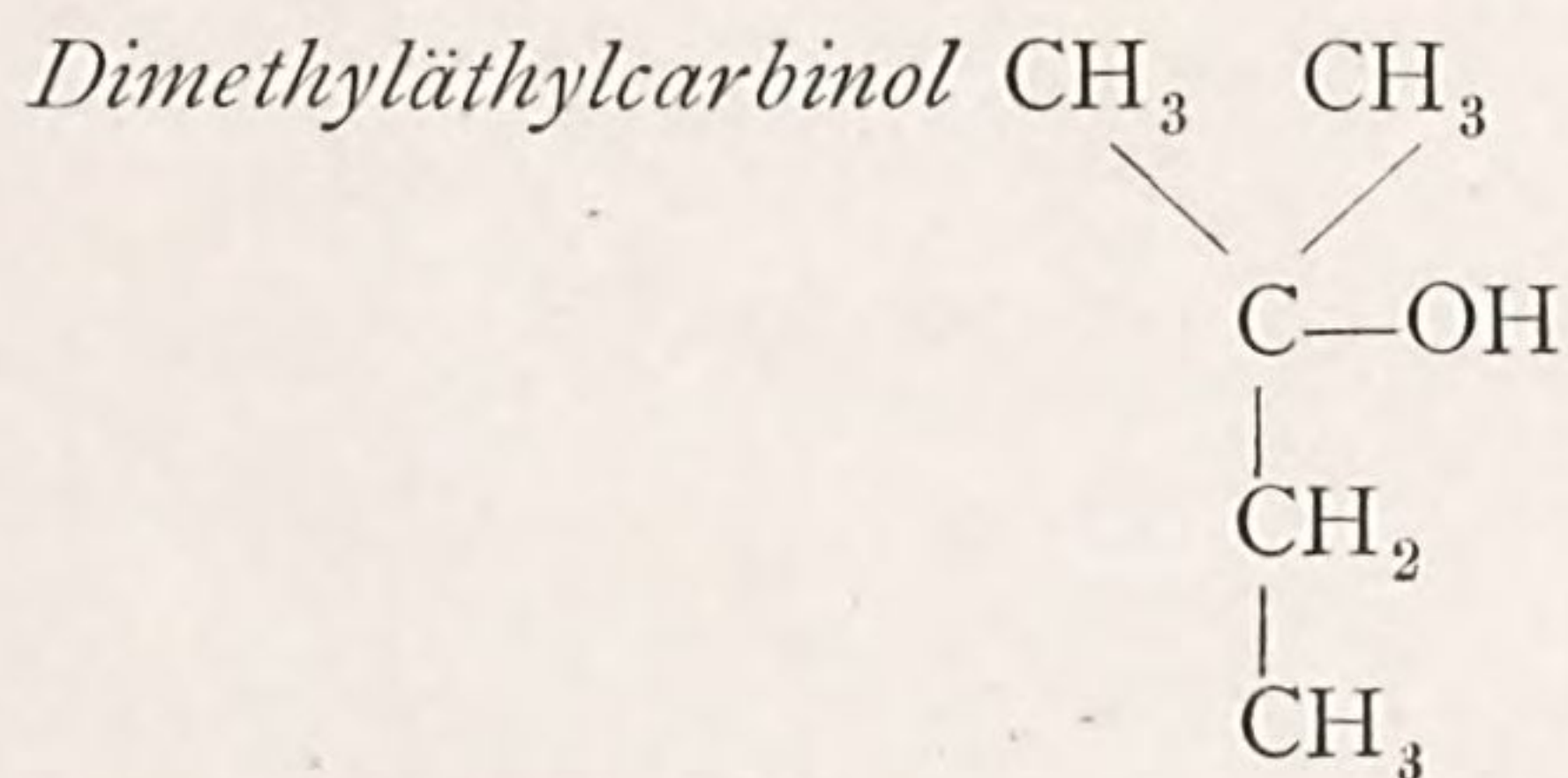
erwies sich in den Versuchen von STUTZER ernährungsuntüchtig; bei mir bildeten sich darin, wenn er sehr verdünnt zugesetzt ward, Spaltpilze.



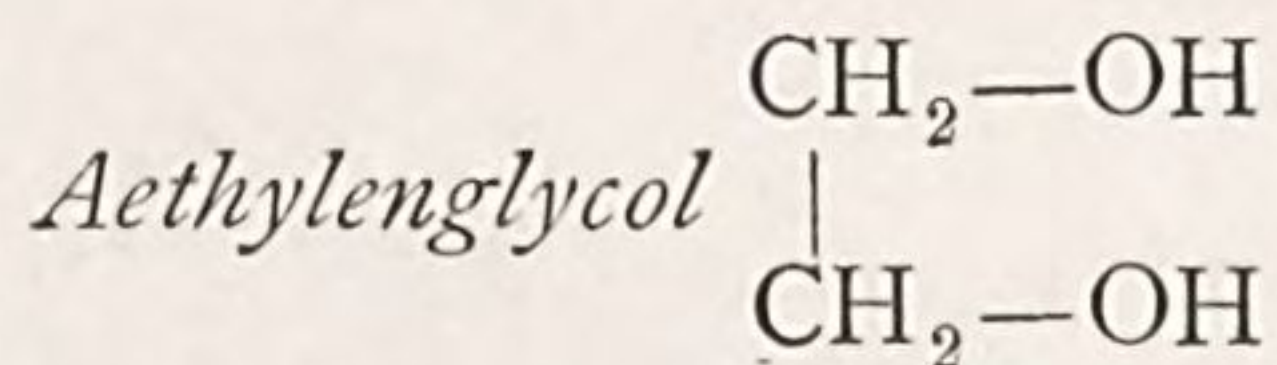
Die Lösung blieb 4 Wochen lang pilzfrei.



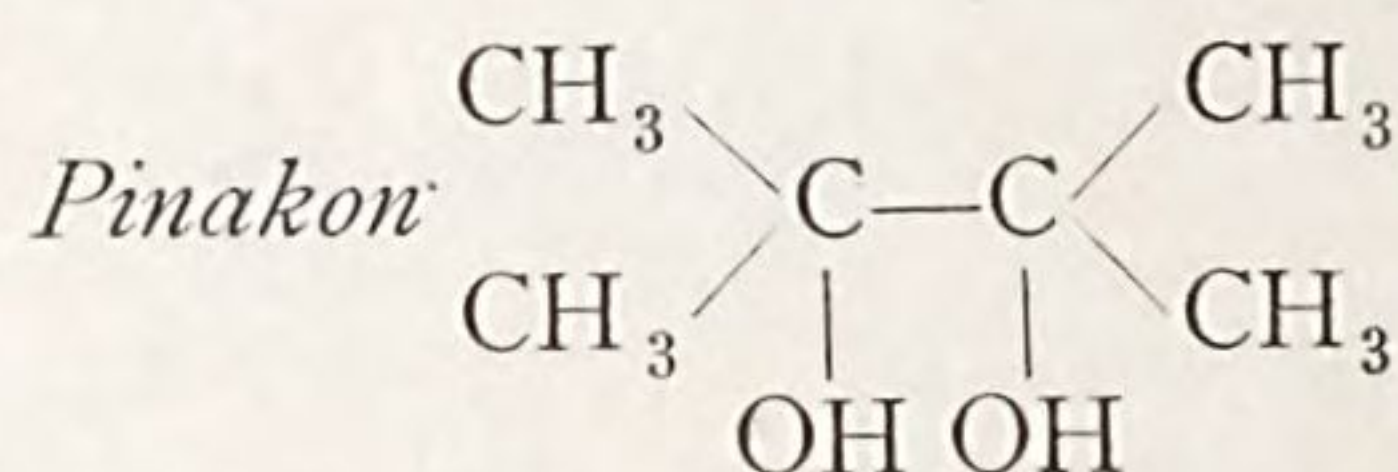
Nach 14 Tagen eine schwache Trübung durch Spaltpilze.



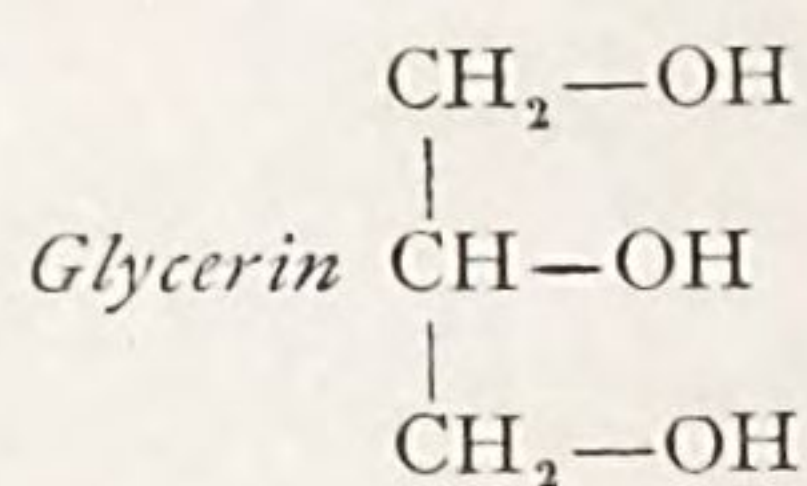
Nach 8 Tagen lebhafte Entwicklung von Spaltpilzen.



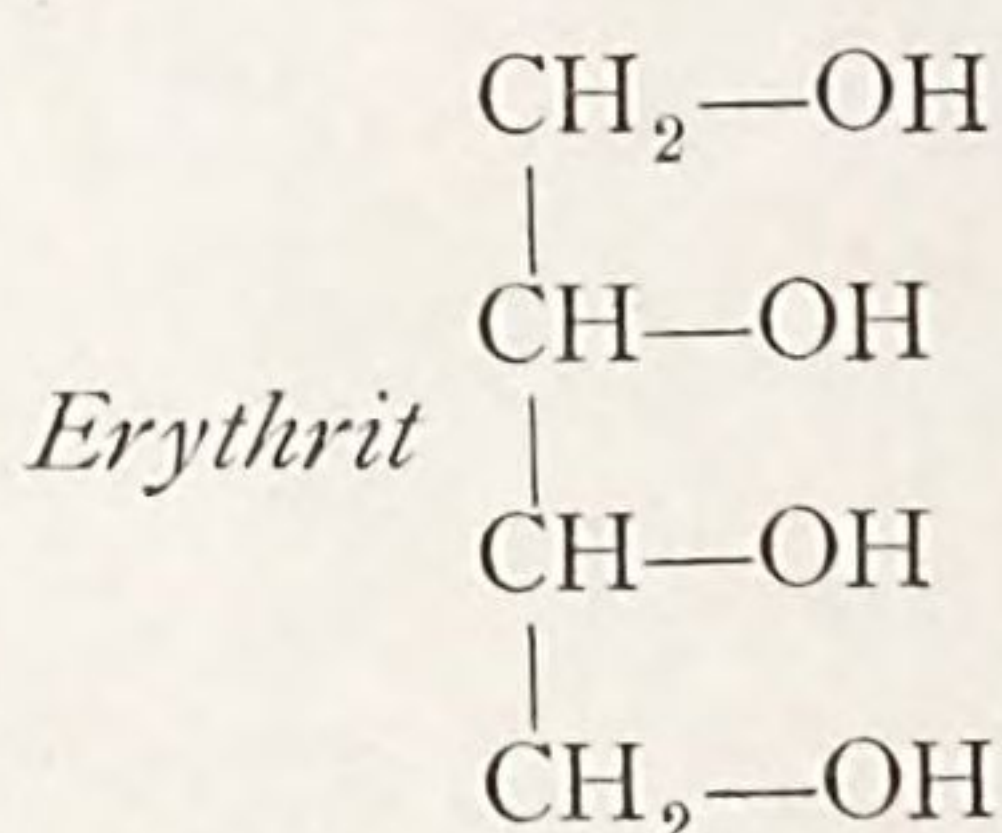
Zunächst schwache Trübung durch Spaltpilze; später kräftige Schimmelentwicklung.



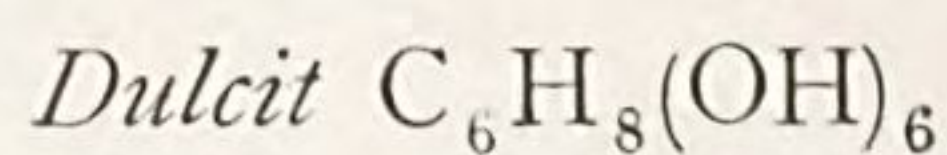
Anfangs Trübung durch Spaltpilze; nach längerem Stehen Schimmelentwicklung.



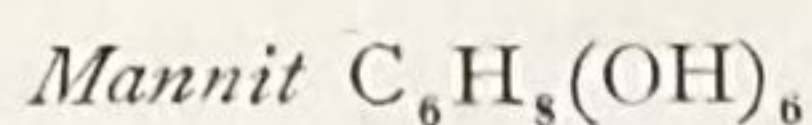
Ernährt (NÄGELI).



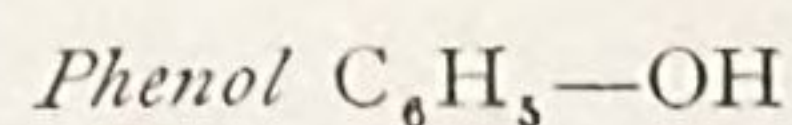
In 8 Tagen kräftige Schimmelbildung.



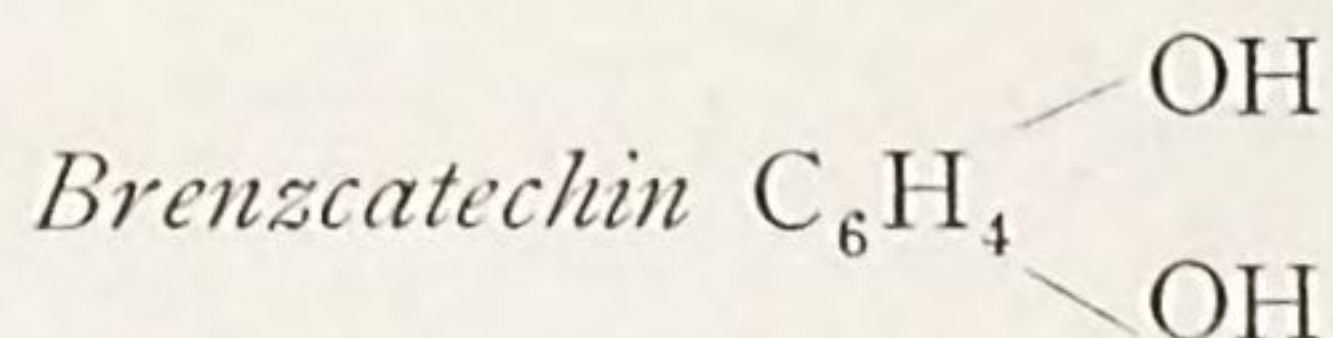
In 8 Tagen Schimmelentwicklung.



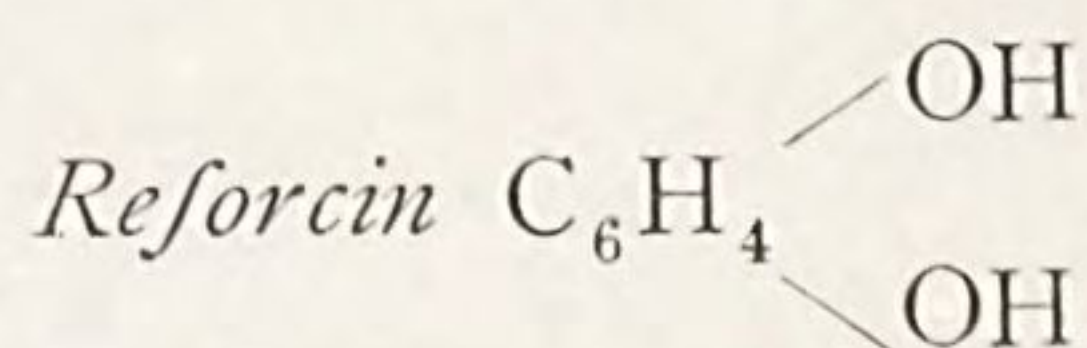
Ernährt (NÄGELI).



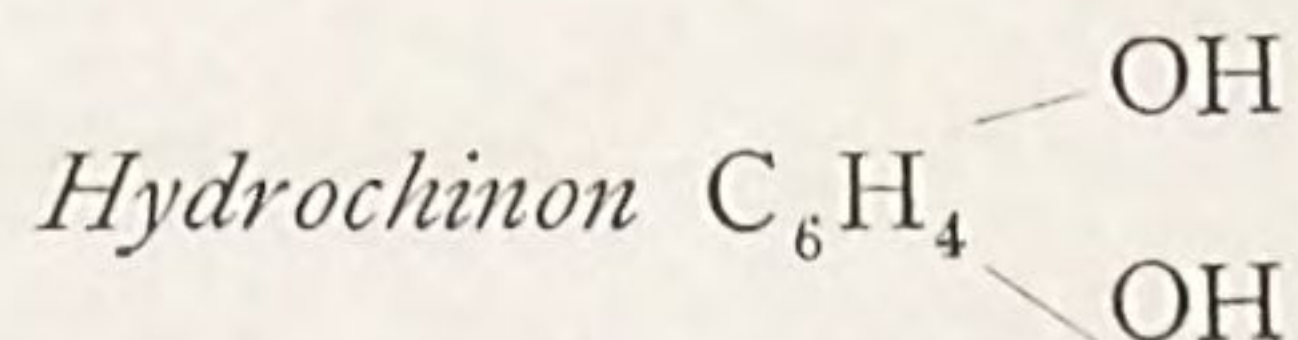
Ernährt (NÄGELI).



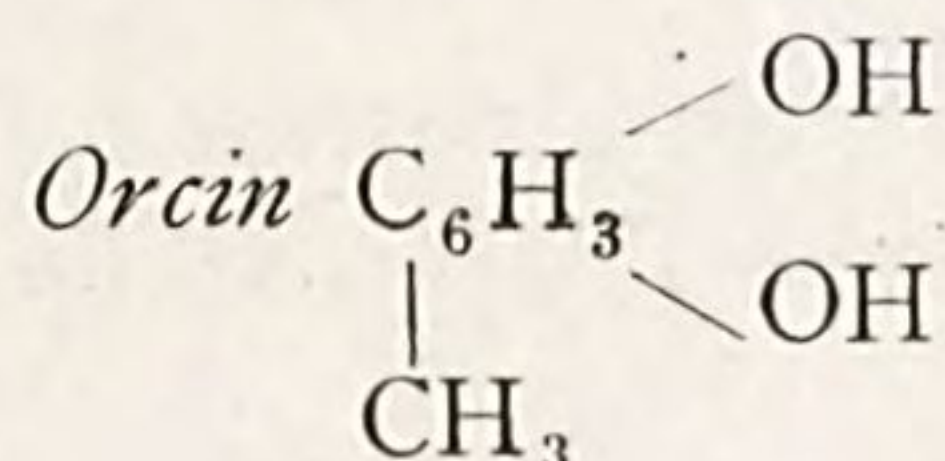
Nach 6 Tagen trübe von Spaltpilzen.



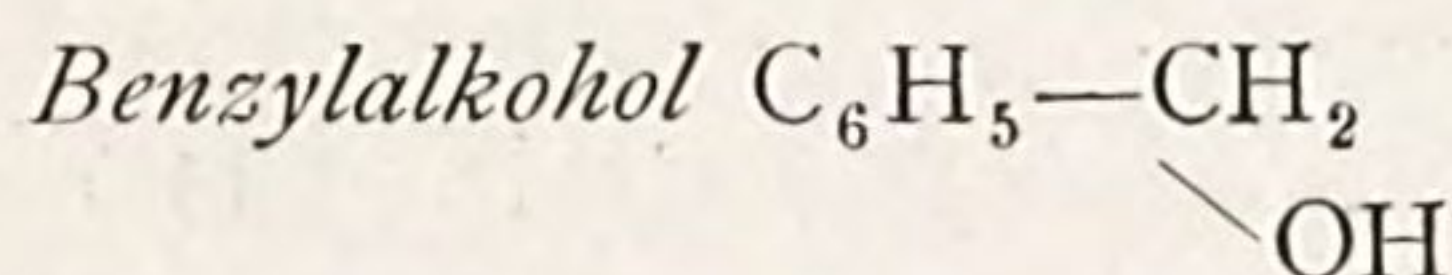
Nach 6 Tagen Entwicklung von Schimmelpilzen, nach einigen Wochen dicke, Conidien tragende Rasen.



Wie Reforcin.

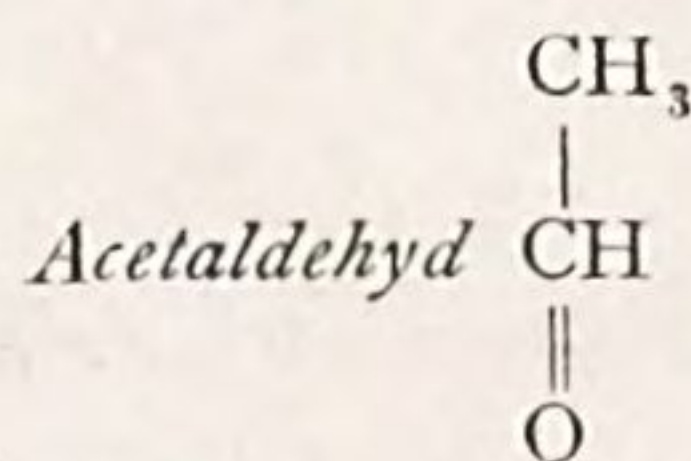


Wie Reforcin.

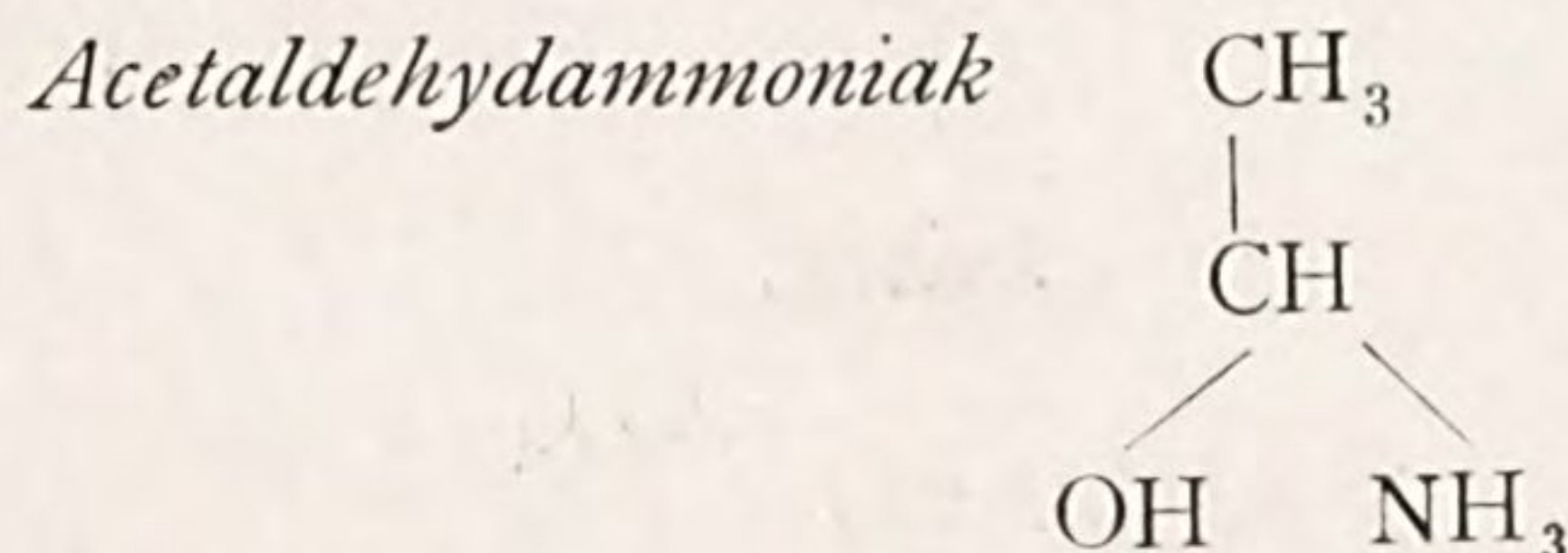


Im Laufe von 3 Wochen zeigte sich eine mäßige Entwicklung von Spalt- und Schimmelpilzen.

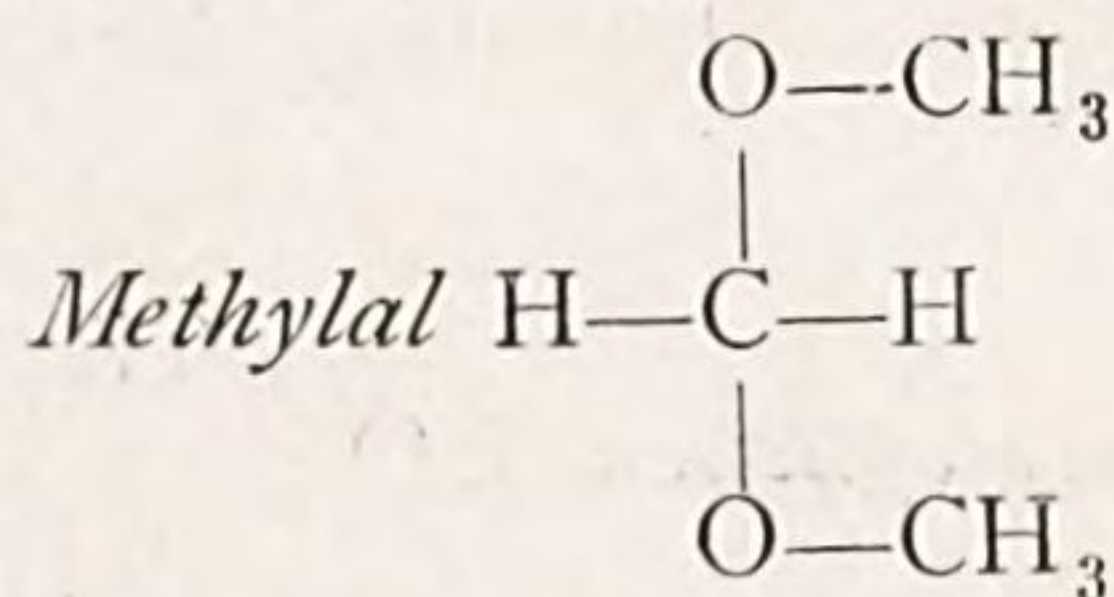
Aldehyde und deren Derivate.



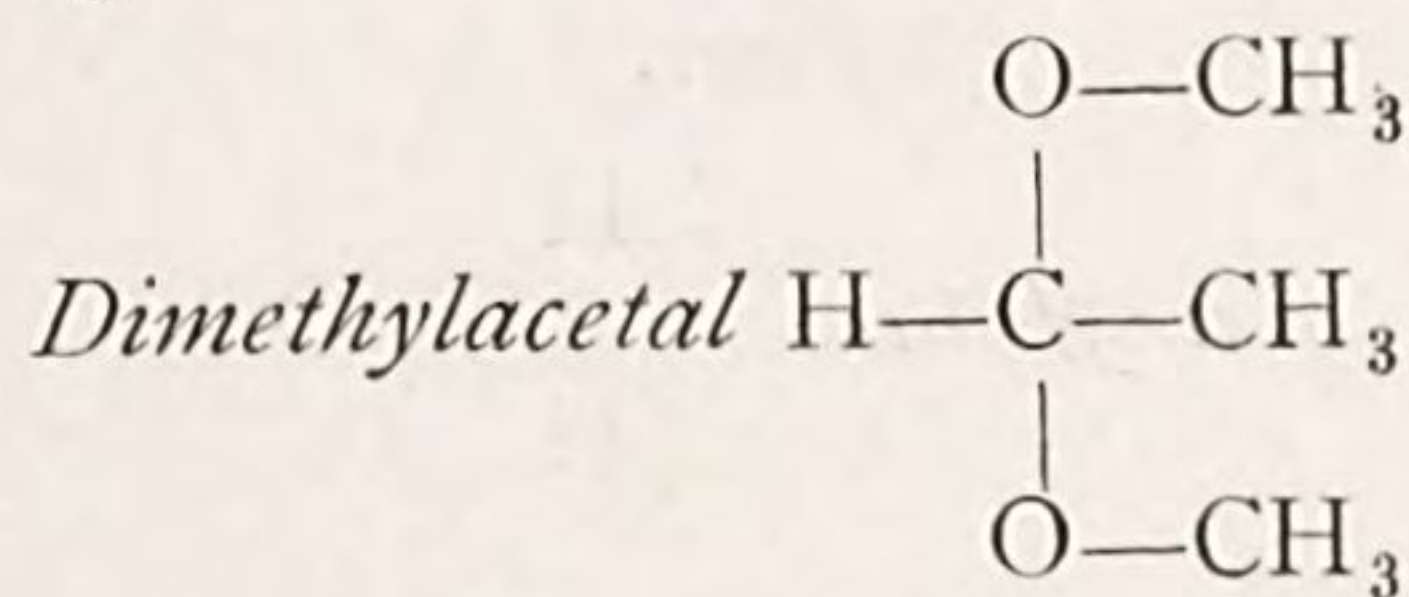
Ernährt nicht (STUTZER).



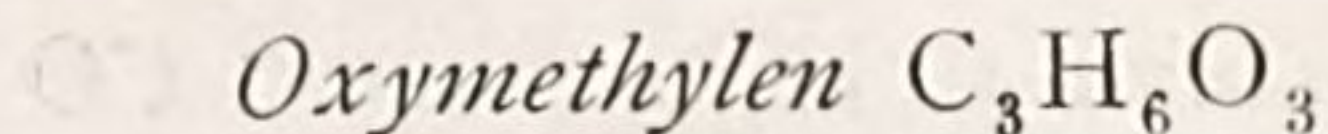
Mit Schwefelsäure neutralisirt: Die Lösung bleibt pilzfrei.



Nach 14 Tagen nur etwas trübe durch Spaltpilze; nach 4 Wochen üppige Pilzentwicklung.



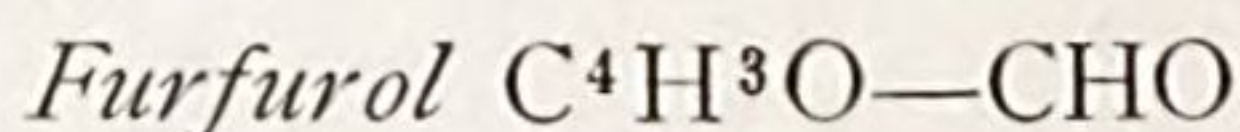
Wie Methylal.



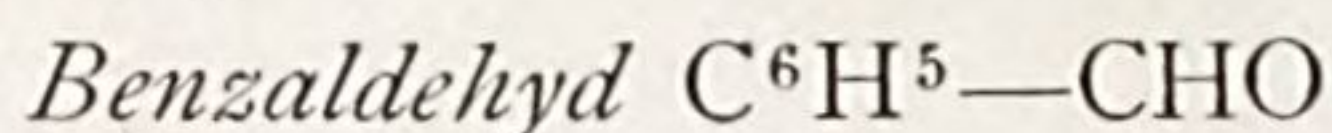
Die Substanz, wovon ich ein sehr reines Präparat Herrn Prof. TOLLENS verdanke, ward durch Erwärmen in einer durch Ammoniak

alkalisch gemachten Flüssigkeit gelöst, dann durch Schwefelsäure bis zur schwach sauren Reaction neutralisirt.

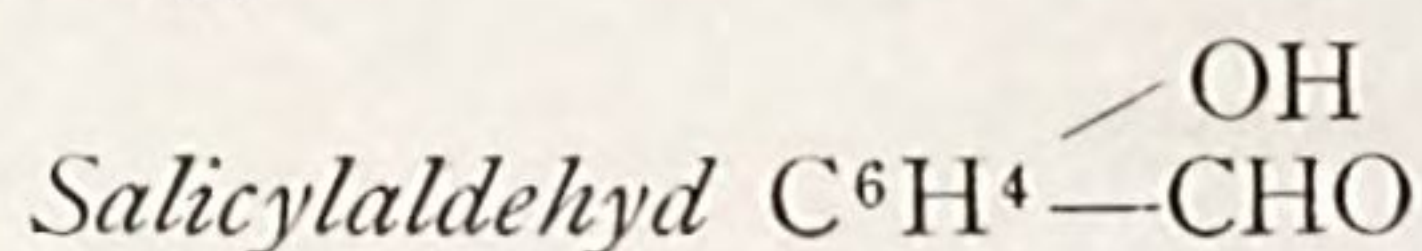
Nach 8 Tagen deutliche Pilzentwicklung, (einige schwimmende Rufen mit Conidienträgern).



Keine Pilzentwicklung.



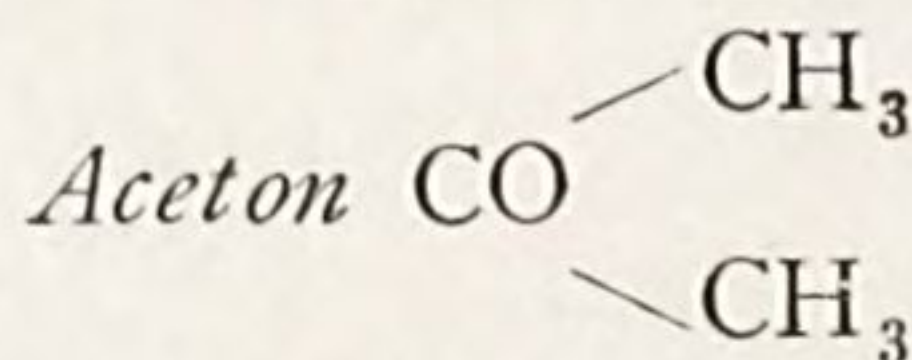
Keine Pilzenwicklung.



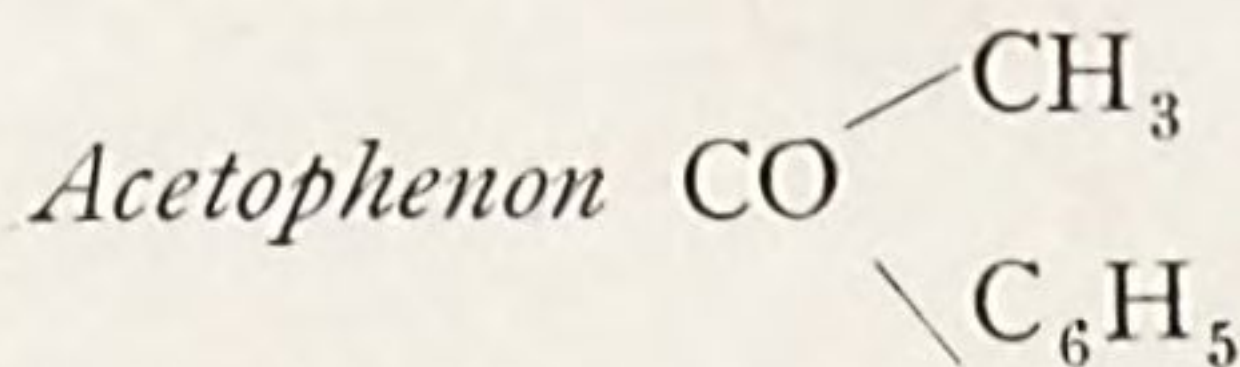
Keine Pilzentwicklung; nach monatelangem Stehen am Rande einige Bakterien.

Lösliche *Kohlenhydrate*, namentlich *Zuckerarten* sind bekanntlich gute Nährstoffe für Pilze, wie speciell durch PASTEUR und NÄGELI gezeigt wurde.

Ketone.

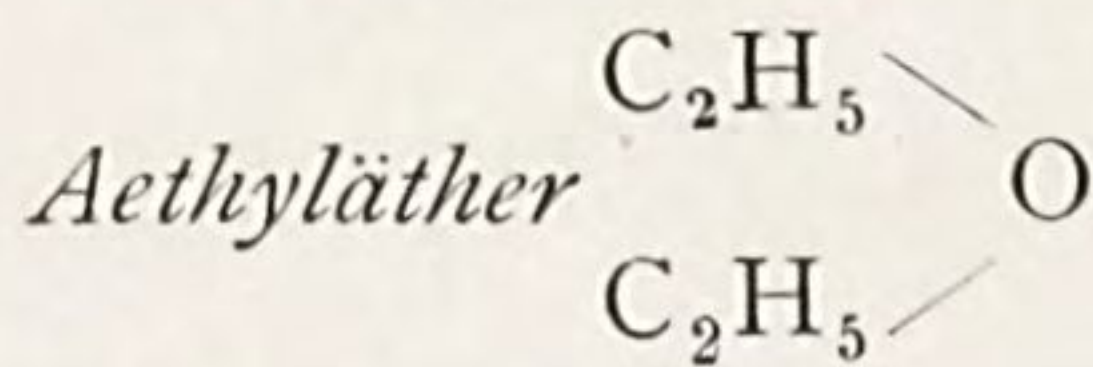


Nach 10 Tagen schwache Trübung durch Bakterien und kleine Pilzflocken.

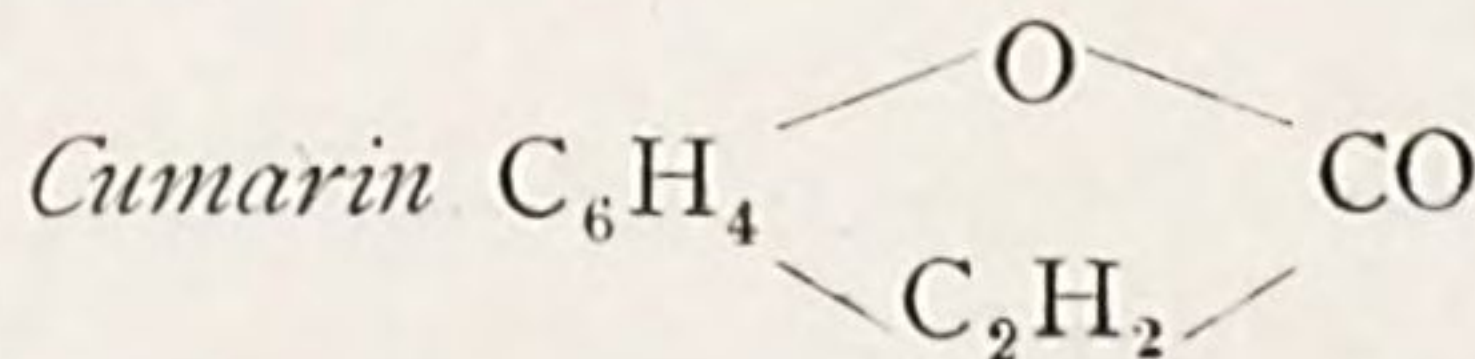


Nach 4 Wochen Pilzflocken.

Aether.



Keine Pilzentwicklung.



Keine Pilzentwicklung.

Ester. *)

Methylformiat $\text{HCO} - \text{CH}_3$

Die Flüssigkeit bleibt klar.

Aethylformiat $\text{HCO}_2 - \text{C}_2\text{H}_5$

Nach 10 Tagen Trübung durch Spaltpilze.

Propylformiat $\text{HCO}_2 - \text{C}_3\text{H}_7$

Nach 6 Tagen Spaltpilze.

Ifobutylformiat $\text{HCO}_2 - \text{C}_4\text{H}_9$

Nach 6 Tagen Spaltpilze; nach 4 Wochen geringe Mengen von Schimmel.

Amylformiat $\text{HCO} - \text{C}_5\text{H}_{11}$

Bleibt klar.

Methylacetat $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2 - \text{CH}_3$

Trübung durch Spaltpilze, dann Schimmelbildung.

Aethylacetat $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2 - \text{C}_2\text{H}_5$

Nach 8 Tagen Trübung durch Spaltpilze; nach 4 Wochen Schimmelrafen.

Propylacetat $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2 - \text{C}_3\text{H}_7$

Nach 6 Tagen Spaltpilze.

Ifobutylacetat $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2 - \text{C}_4\text{H}_9$

Ebenfo.

Amylacetat $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2 - \text{C}_5\text{H}_{11}$

Ebenfo.

Allylacetat $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2 - \text{C}_2\text{H}_3$

In 14 Tagen Entwicklung von Schimmel nach vorausgegangener Trübung durch Bakterien.

Methylpropionat $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2 - \text{CH}_3$

Ebenfo.

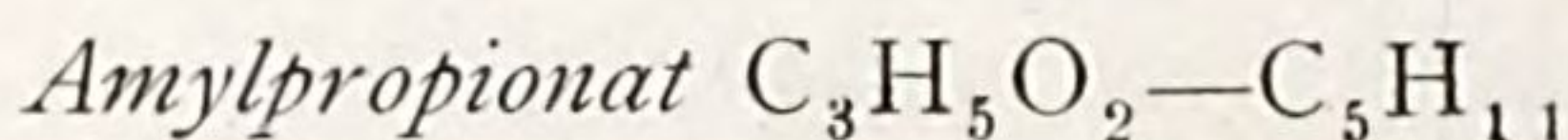
Aethylpropionat $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2 - \text{C}_2\text{H}_5$

Ebenfo.

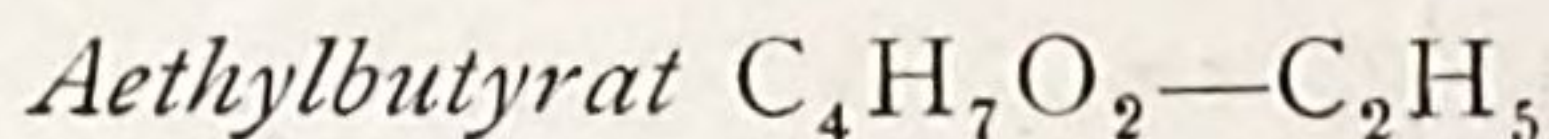
Propylpropionat $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2 - \text{C}_3\text{H}_7$

Ebenfo.

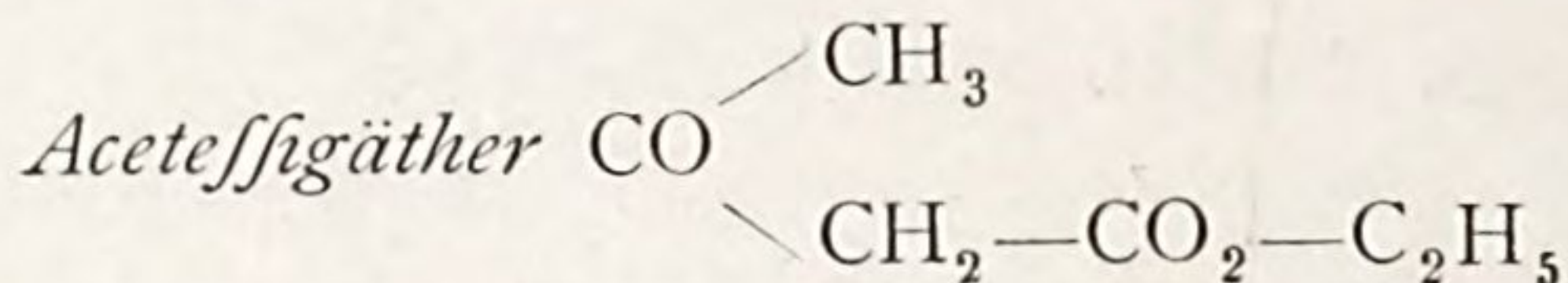
*) Die Lösungen wurden, wie auch alle übrigen, mindestens 6 Wochen lang beobachtet.



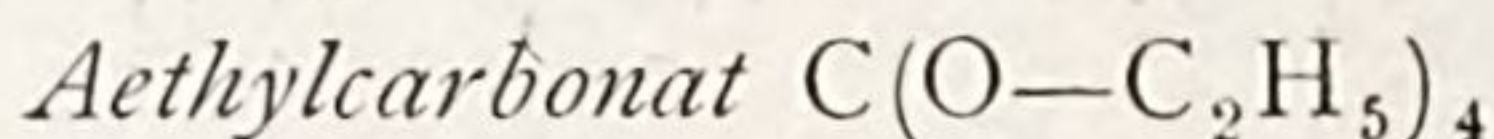
Ebenso.



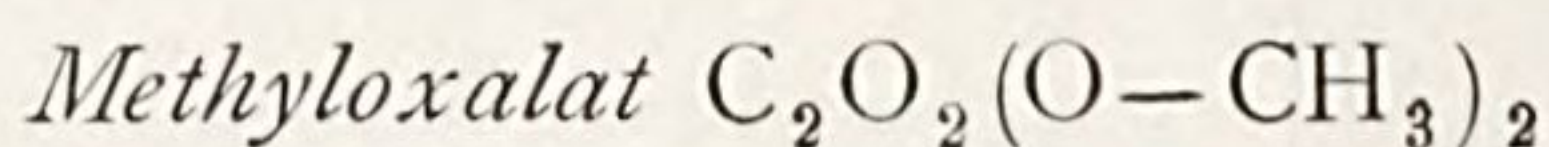
Ebenso.



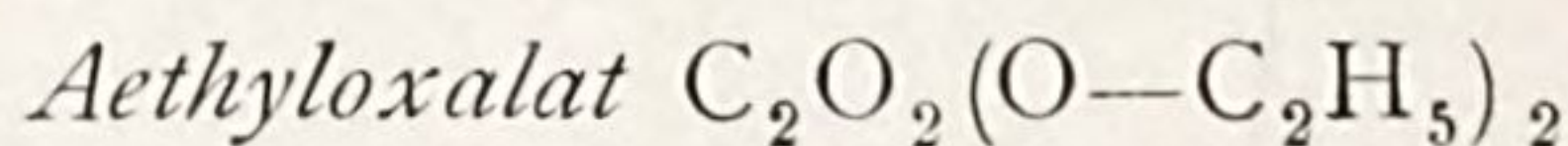
In 14 Tagen Trübung durch Spaltpilze.



Klar ohne Pilze.



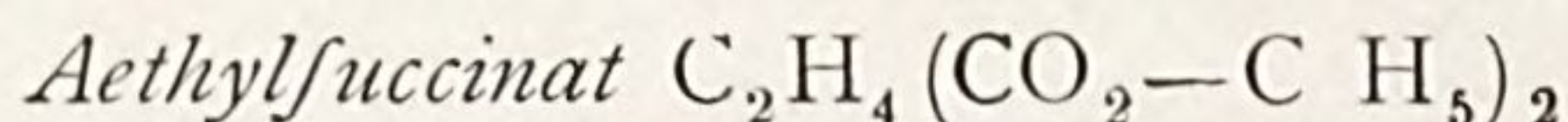
In 14 Tagen schwache Schimmelbildung.



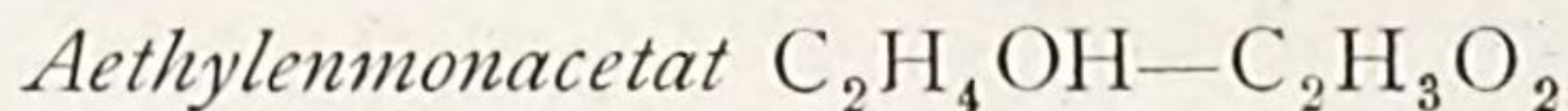
Blieb klar.



Nach 6 Tagen reichliche Entwicklung von Spaltpilzen, aber auch schon Schimmelpilze; letztere nahmen dann bald überhand.

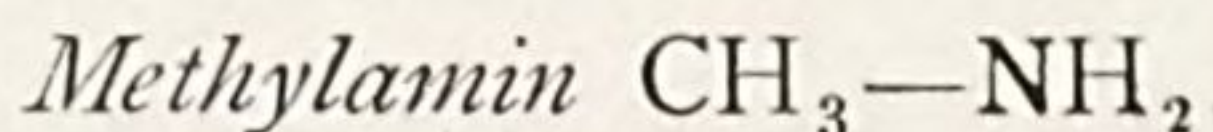


Wie voriges.



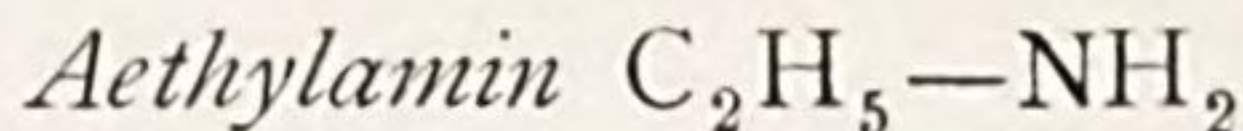
In 14 Tagen Pilzentwicklung.

Amine und verwandte Basen.



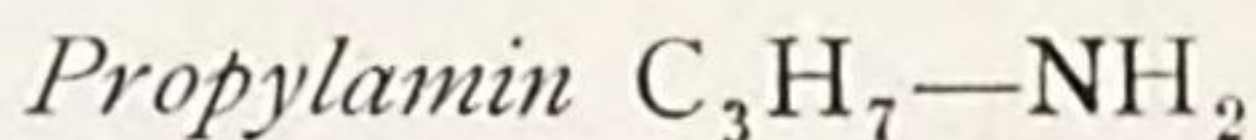
Ernährt (NÄGELI).

Ich fand reichliche Schimmelbildung im Methylamin bei Neutralisieren mit Schwefelsäure.



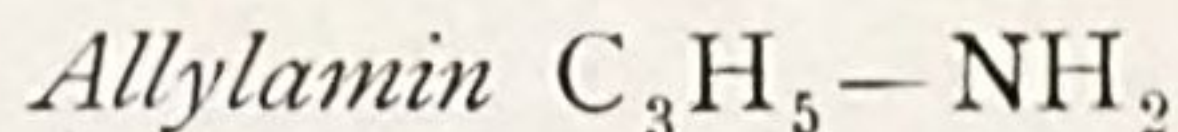
Ernährt (NÄGELI).

Wie voriges.



Ernährt (NÄGELI).

Wie voriges.



Wie voriges.

Dimethylamin $(\text{CH}_3)_2 \text{NH}$

In 8 Tagen Schimmelentwicklung.

Diäthylamin $(\text{C}_2\text{H}_5)_2 \text{NH}$

Wie voriges.

Trimethylamin $(\text{CH}_3)_3 \text{N}$

Ernährt (NÄGELI).

In 8 Tagen reichliche Schimmelvegetation.

Triäthylamin $(\text{C}_2\text{H}_5)_3 \text{N}$

In 8 Tagen reichliche Pilzentwicklung.

Tetramethylammoniumhydroxyd $\text{OH}(\text{CH}_3)_4 \text{N}$

In Sulfat übergeführt.

Wie voriges.

Tetraäthylammoniumhydroxyd $\text{OH}(\text{C}_2\text{H}_5)_4 \text{N}$

Wie voriges.

Neurin $(\text{CH}_3)_3 \text{N} \begin{array}{l} \diagup \text{CH}=\text{CH}_2 \\ \diagdown \text{OH} \end{array}$

In 8 Tagen reichliche Schimmelentwicklung.

Anilin $\text{C}_6\text{H}_5\text{—NH}_2$

Ernährt (NÄGELI)

Ich erhielt nur Spaltpilze.

Dimethylanilin $\text{C}_6\text{H}_5(\text{CH}_3)_2 \text{N}$

Im Verlauf mehrerer Wochen Trübung durch Spaltpilze.

Diphenylamin $(\text{C}_6\text{H}_5)_2 \text{NH}$

Die Lösung blieb klar.

Nitrile

Blausäure H—CN

Ernährt nicht.

Acetonitril $\text{CH}_3\text{—CN}$

Im Laufe von 14 Tagen Schimmelentwicklung, zugleich Spaltpilze.

Propionitril $\text{C}_2\text{H}_5\text{—CN}$

Spaltpilze.

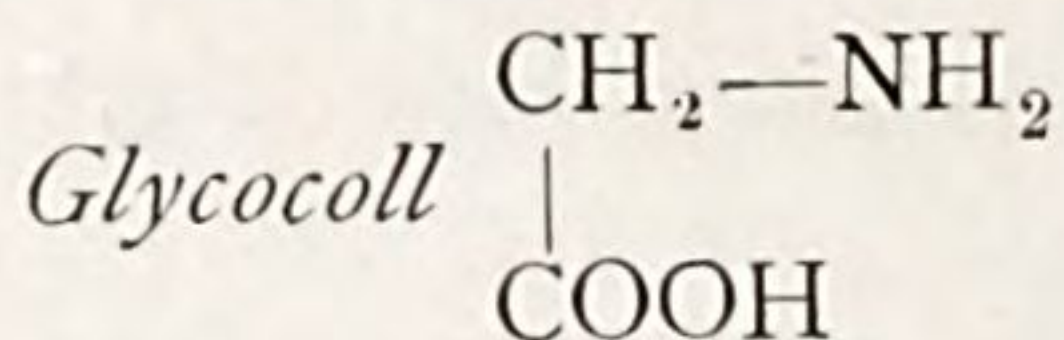
Capronitril $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{—CN}$

Spaltpilze.

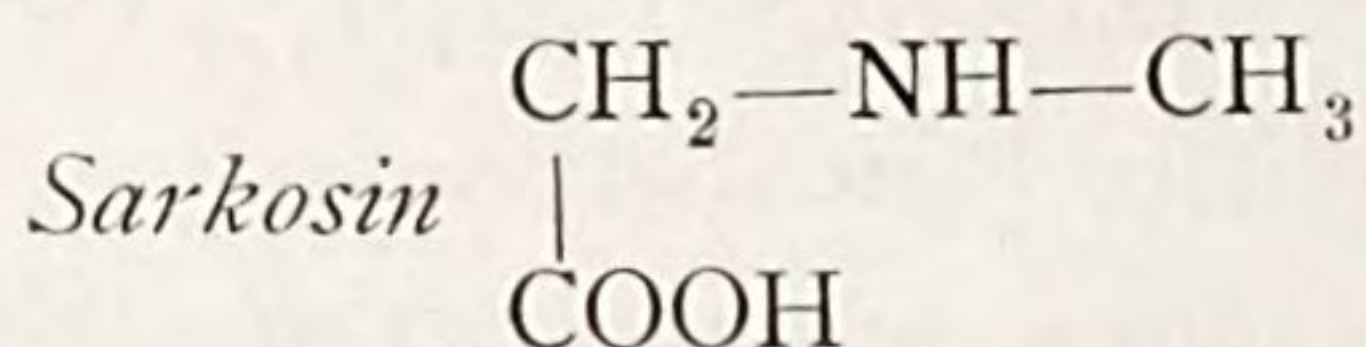
Benzonitril C_6H_5-CN

Im Laufe dreier Wochen erst Bakterien, dann Schimmelpilze.

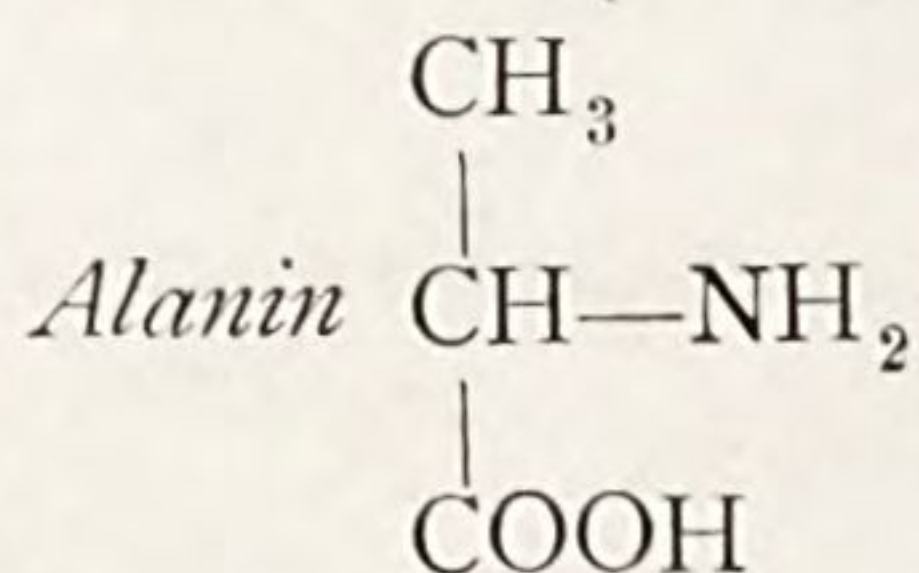
Amidosäuren.



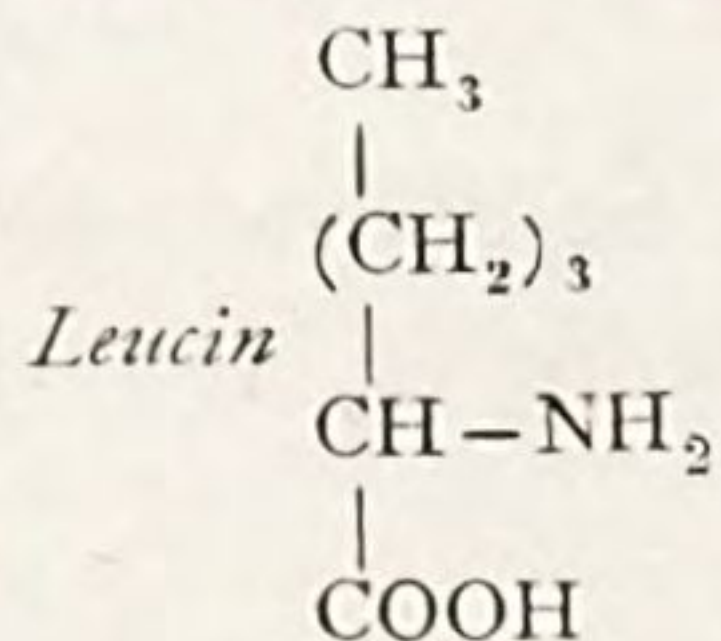
In 8 Tagen üppige Schimmelentwicklung.



In 8 Tagen massenhafte Bakterien.



Nach 8 Tagen starke Trübung durch Spaltpilze.



Ernährt (NÄGELI).

Säureamide

Formamid $\text{CHO}-\text{NH}_2$

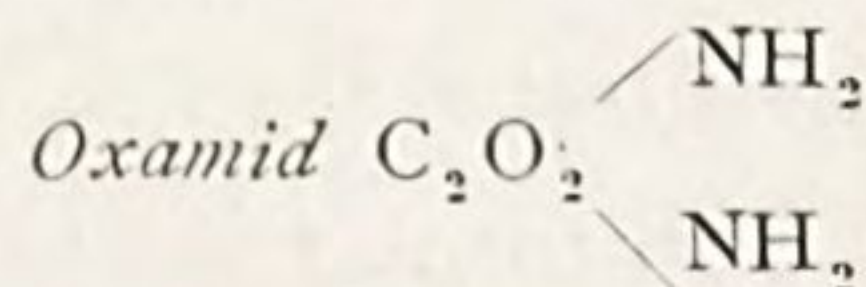
Die Lösung bleibt vollkommen klar.

Acetamid $C_2H_3O-\text{NH}_2$

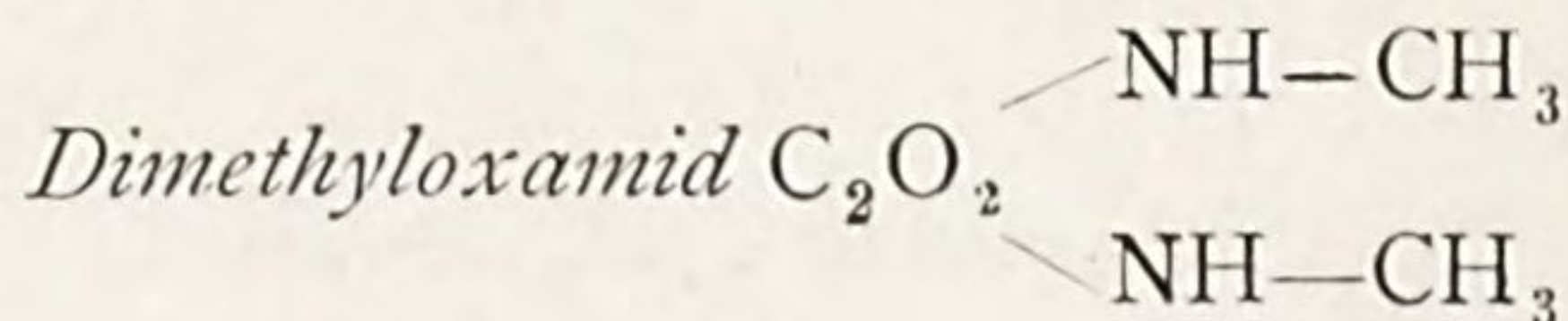
Ernährt (NÄGELI).

Propionamid $C_3H_5O-\text{NH}_2$

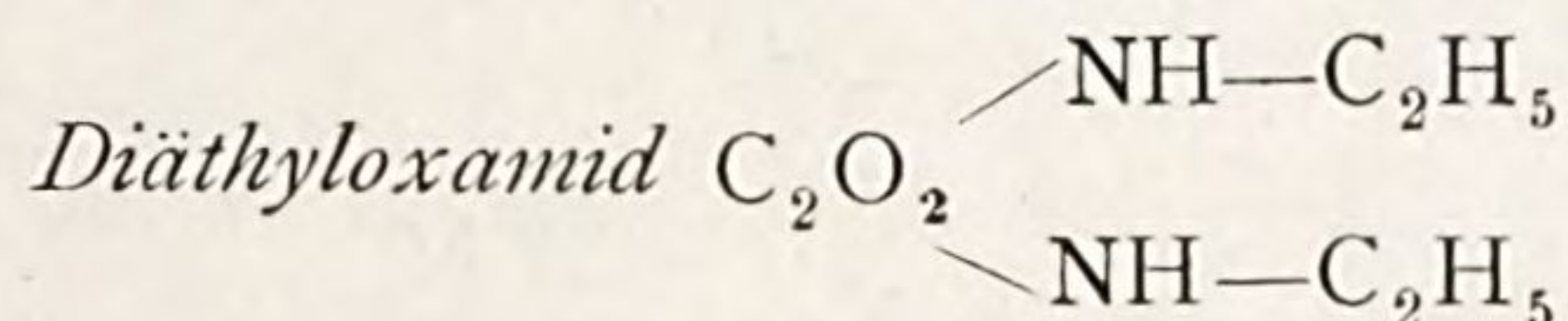
In 8 Tagen kräftige Schimmelentwicklung.



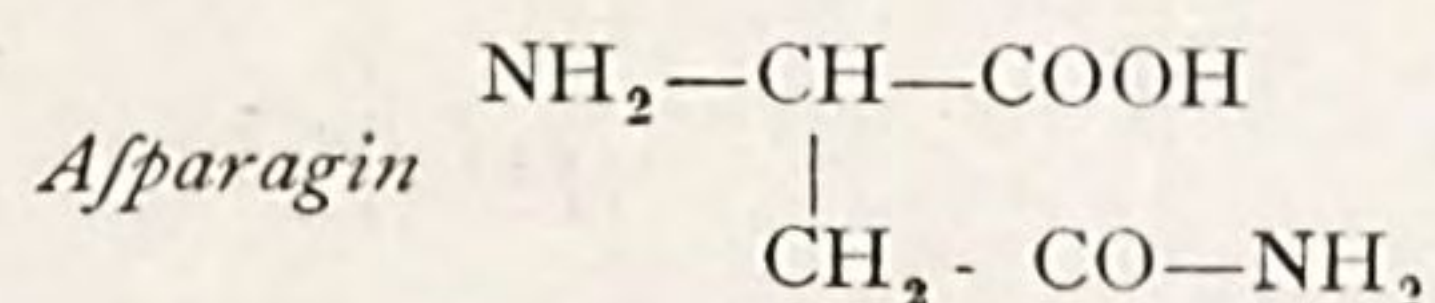
Ernährt nicht (NÄGELI).



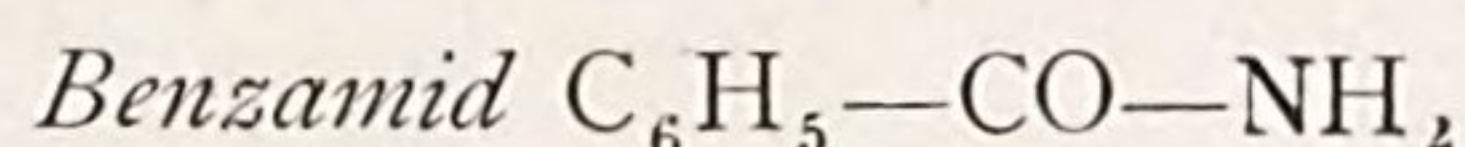
In 8 Tagen Schimmelentwicklung.



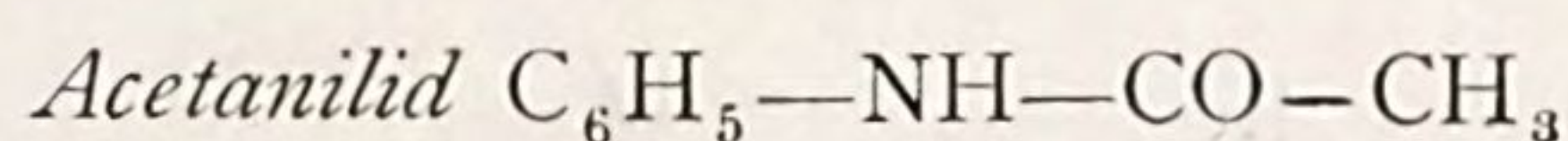
Wie voriges.



Ernährt (NÄGELI).

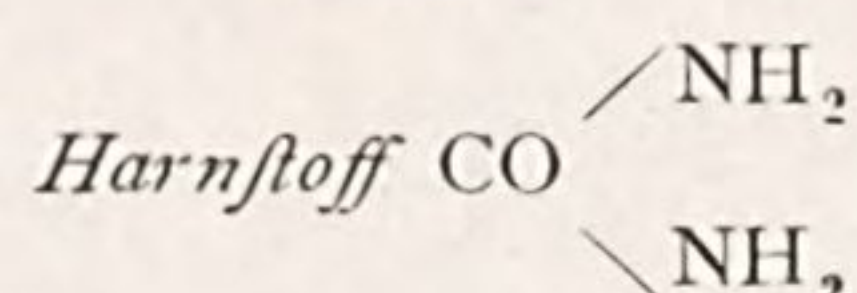


Die Lösung blieb 4 Wochen klar.

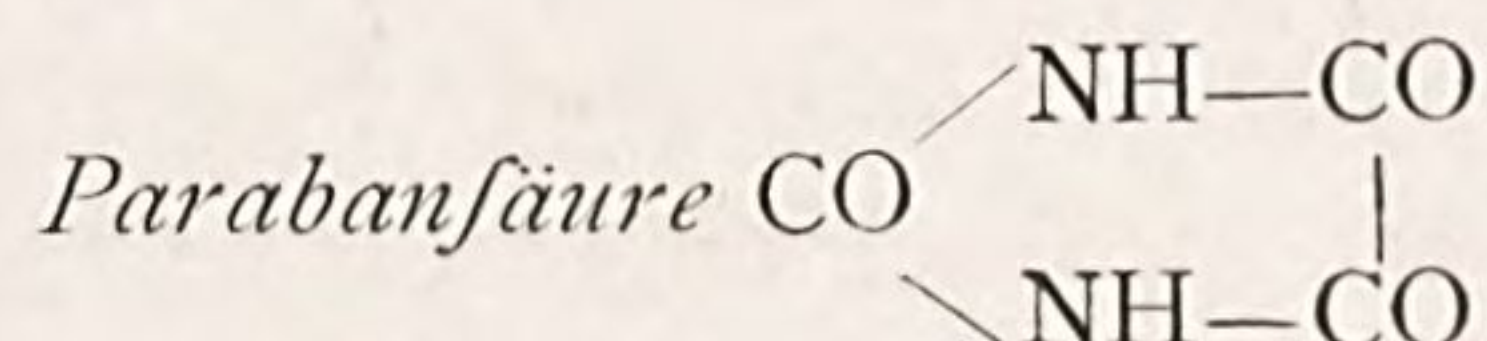


Im Laufe dreier Wochen lebhafte Schimmelbildung.

Ureide.

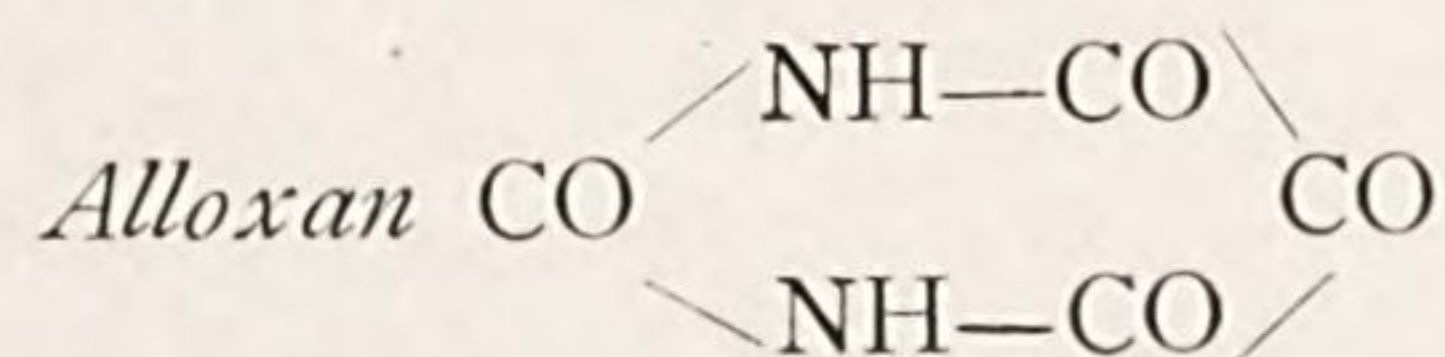


Ernährt nicht (NÄGELI).

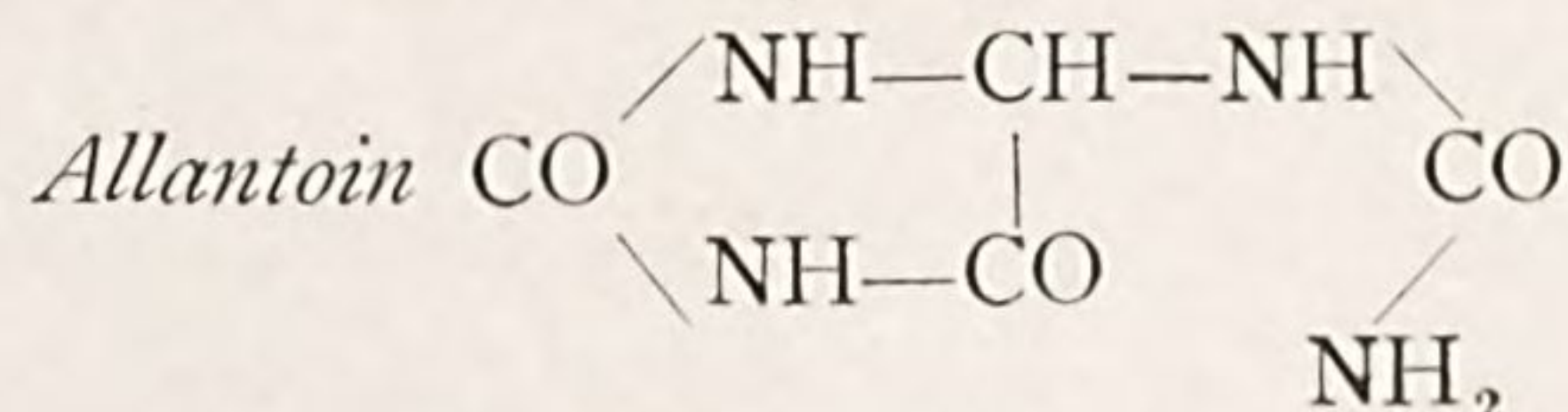


In 8 Tagen reichliche Entwicklung von Penicillium.

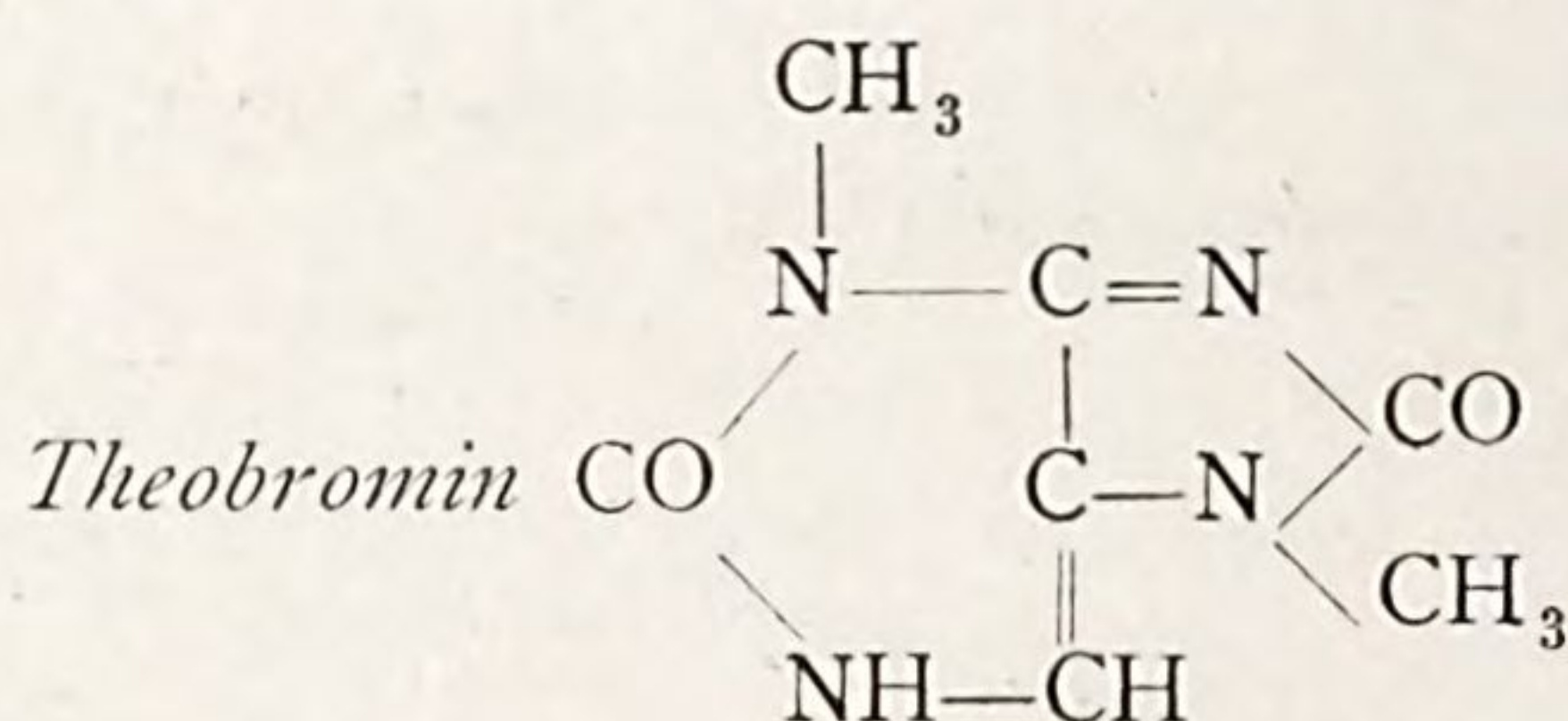
Der erste Versuch war angestellt mit einem von Herrn KAHL-BAUM bezogenen Präparate; das Ergebniss war aber das gleiche, als ich ein unzweifelhaft sehr reines Präparat verwendete, welches ich der Güte des Herrn Prof. TOLLENS verdanke.



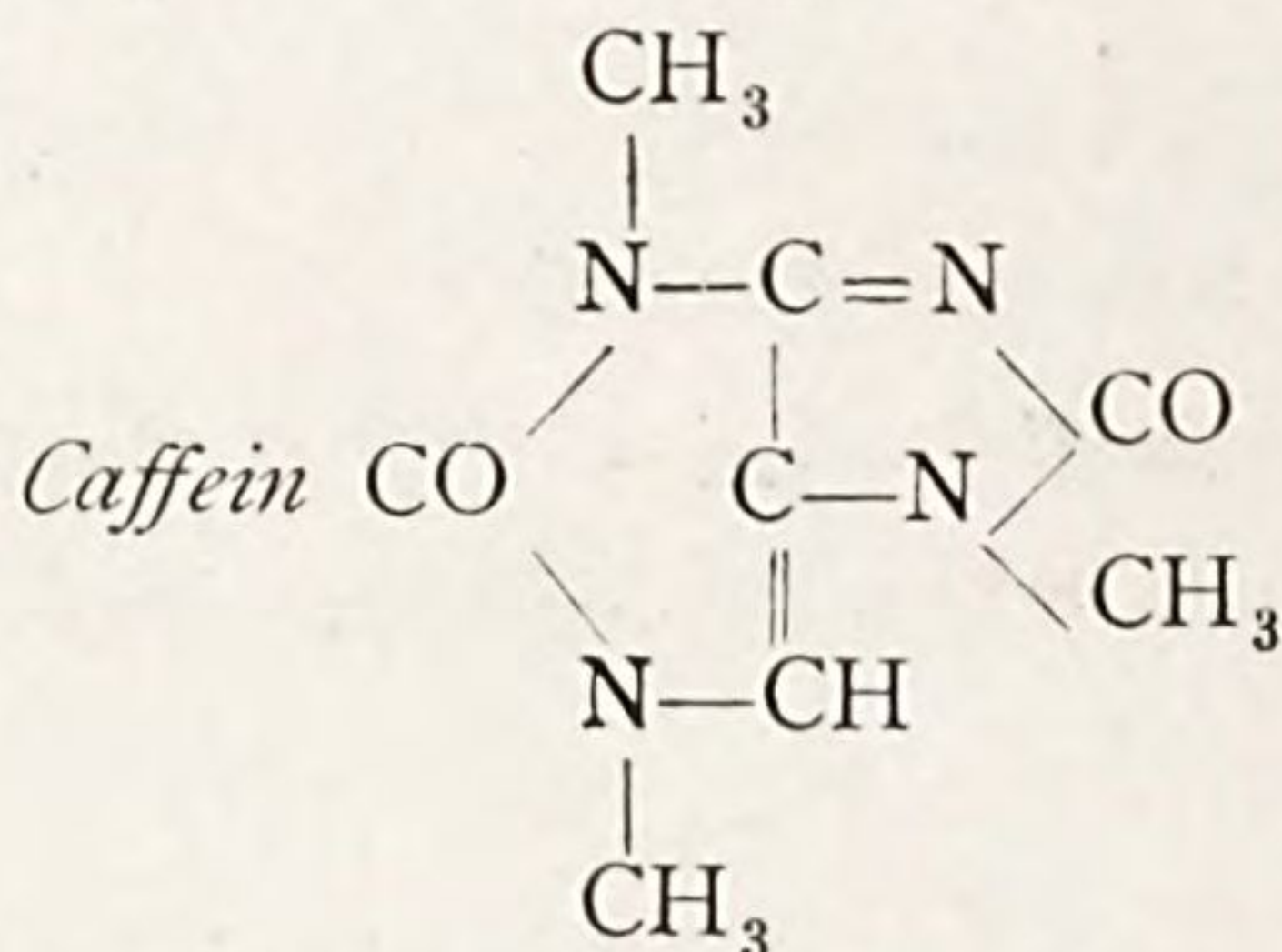
Keine Schimmelentwicklung.



Ich verdanke das aus Platanenknospen hergestellte Präparat Herrn Prof. E. SCHULZE. In der Lösung zeigte sich nach 8 Tagen eine lebhafte Entwicklung von Penicillium.



Die Lösung blieb 4 Wochen lang klar.



Die Lösung ward nach einigen Wochen etwas von Spaltpilzen getrübt, ohne Schimmelentwicklung.

Wenn wir nunmehr an den Versuch herantreten, die im Vorstehenden aufgeführten Beobachtungsergebnisse für das Studium der Kohlenstoffassimilation und der constructiven Stoffmetarmorphose in der Pflanzenzelle zu verwerthen, so wird uns alsbald das Fragmentarische, die Lückenhaftigkeit des hier gebotenen Materials besonders in den Widersprüchen entgegentreten, welche das Verhalten von oft einander nahe stehenden und analog gebauten Körpern darbietet. Obgleich ich zahlreichere Verbindungen auf ihren Nährwerth geprüft habe, als meine Vorgänger, so springt doch gerade aus meinen Untersuchungen hervor, wie wichtig und wünschenswerth es wäre, noch viele andere Körper zu studiren; ja, das Verhalten der untersuchten Stoffe drängt häufig genug, ganz bestimmte Verbindungen als interessant und wichtig in's Auge zu fassen, die ich aber leider nicht berücksichtigen konnte, weil mir das Material dazu fehlte.

Zuvörderst dürfte es zweckmäfsig sein, zu prüfen, ob die von STUTZER und NÄGELI ausgesprochenen Sätze über den Zusammenhang der Structur und des Nährwerthes der Verbindungen durchweg durch meine Beobachtungen eine Bestätigung erfahren.

Nach STUTZER kommen für die Ernährung Kohlenwasserstoffgruppen in Betracht, welche mit Hydroxylgruppen in Zusammenhang stehen. Er spricht dann zunächst den »carboxylierten Kohlenwasserstoffen«, d. h. den Carbon Säuren, nur theilweise die Fähigkeit zu, zu ernähren, manchen Säuren, wie der Butter Säure, spricht er diese Fähigkeit ab. Ebenso urtheilt er über die »hydroxylierten Kohlenwasserstoffe«, also Verbindungen mit alkoholischen Gruppen, während alle von ihm (allerdings keine große Zahl) untersuchten »carboxylierten hydroxylierten Kohlenwasserstoffe«, also Carbon Säuren mit alkoholischen Gruppen, sich als Nährstoffe erweisen.

Ich möchte dem gegenüber zunächst hervorheben, daß, wenn wir von der Kohlen Säure, der Ameisen Säure und Oxal Säure absehen, sämtliche von STUTZER, NÄGELI und mir untersuchte Carbon Säuren sich als ernährungstüchtig erwiesen haben; wobei allerdings hervorzuheben ist, daß sie eventuell nur als Salz angewendet werden dürfen; so ernährt z. B. die Butyratgruppe ganz entschieden, nicht aber die *freie* Butter Säure; ähnlich verhält sich die Propion Säure, und auch die Acetatgruppe ist wahrscheinlich im Salz ein geeigneterer Nährstoff, als in der freien Essig Säure.

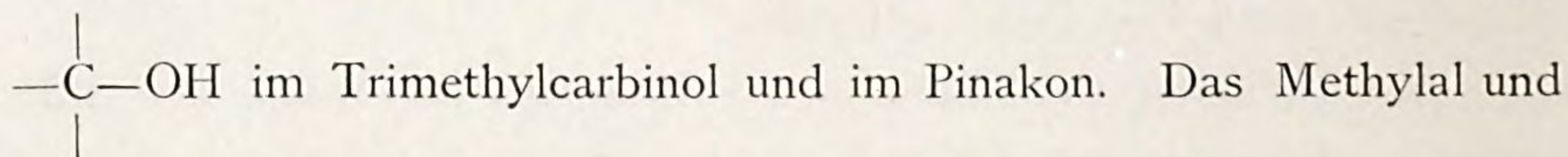
Das Verhalten der homologen Glieder aus der Reihe der Essig Säure — die im freien Zustande sicher ernährt — zeigt uns zugleich deutlich, daß der Satz von NÄGELI, daß mit der steigenden Zahl der unmittelbar zusammenhängenden C Atome die Assimilation besser von statten gehe, jedenfalls keiner allgemeineren Anwendung fähig ist.

Wenn es zunächst auch sicher zu fein scheint, daß Kohlenwasserstoffe nur in Verbindung mit anderen Grundstoffen oder Atomgruppen assimilierbar sind, so braucht der für die Bildung eines assimilierbaren Körpers erforderliche Paarling keineswegs gerade Hydroxyl zu sein, wie man nach den Sätzen von STUTZER annehmen könnte. Schon NÄGELI hat gezeigt, daß die Methylgruppe im Methylamin zu ernähren vermag; ein Gleiches habe ich für alle von mir untersuchten Alkohole gefunden; in diesen Fällen war im Nährstoff überhaupt keine Hydroxylgruppe vorhanden.

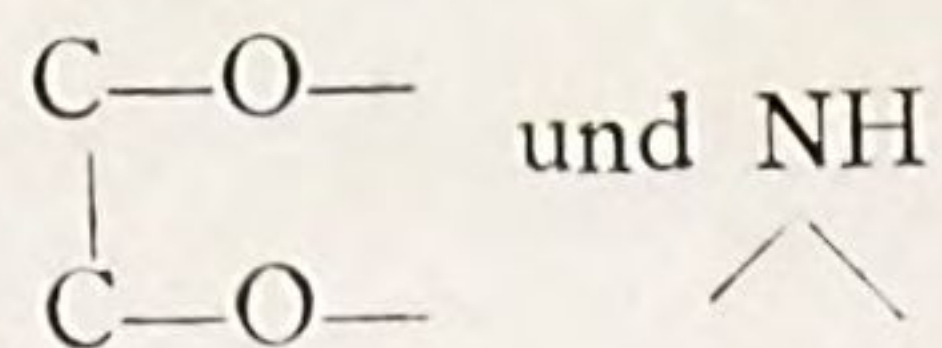
Das Verhalten des Methylamins veranlaßt zur Frage, ob die

Methylgruppe überhaupt unter allen Umständen als Kohlenstoffquelle für Pilze dienen könne. In der Essigsäure ist sie mit der Carboxylgruppe, der ja an sich kein Nährwerth zukommt, gepaart, und die Essigsäure ernährt. Aber schon im Methylalkohol ist der Nährwerth der Methylgruppe wahrscheinlich gleich Null, da die geringe, von mir nach Wochen beobachtete Trübung vermuthlich von einer Verunreinigung herrührte; auch NÄGELI beobachtete keinen Nähraffect. Dagegen ernährt die Methylgruppe wieder ganz unzweideutig in der Methylschwefelsäure, wo sie mit der Schwefelsäure in ätherartiger Verknüpfung auftritt. Im Theobromin hingegen ernährt sie nicht.

Wir gelangen somit in Bezug auf die Methylgruppe zu dem Satze: *Die Methylgruppe vermag den Pilzen als ausreichende Kohlenstoffquelle zu dienen, wenn sie denselben in Verbindung mit einem geeigneten Paarlinge dargeboten wird, aber auch nur dann.* Als solche geeignete Paarlinge erweisen sich die Carboxylgruppe, NH_2 , ebenso NH und N , die Schwefelsäure; als ungeeignet das Hydroxyl und die Aldehydgruppe. Als weniger, aber nicht völlig ungeeignete Paarlinge erscheinen das Carbonyl im Aceton und die Gruppe



Dimethylacetal, in welchen nach längerem Stehen sich lebhaft Pilze entwickelten, geben wegen ihren CH_2 und CH -Gruppe in dieser Hinsicht keine Auskunft. Wenn Dimethyloxamid ernährt, so ist hier die Verkettung der Methylgruppen eine analoge wie im Dimethylamin — also mit der NH -Gruppe, die beiden Carbonyle dürften ebenso wirkungslos sein, wie im Oxamid. Wenn im Acetonitril sich Schimmelpilze entwickelten, so könnte man geneigt sein, auch die Cyangruppe als einen geeigneten Paarling des Methyls anzusehen; allein in dieser Verbindung ist vermuthlich frühzeitig eine Oxydation zu Essigsäure eingetreten und letzterer ist dann die Nährwirkung zuzuschreiben. Im Dimethyloxamid, welches unzweifelhaft ernährt, sind mit dem Methyl die beiden jedenfalls trennbaren Paarlinge



verknüpft; während das complicirte Gerüst von C, H, O und N Atomen, an welchem die Methylgruppen im Theobromin und Caffein haften, keinen geeigneten Paarling abgeben; sie scheinen durch den Organismus des Pilzes nicht in geeigneter Form gelöst werden zu können.

Nachdem wir so gesehen haben, wie die Gruppe $-\text{CH}_3$ *bedingungsweise* als Ausgangspunkt für den gesammten Kohlenstoff einer Pflanzenzelle dienen kann, wollen wir untersuchen, wie sich die

Gruppen $\begin{array}{c} | \\ \text{CH}_2 \\ | \end{array}$ und $\begin{array}{c} | \\ -\text{CH} \\ | \end{array}$ verhalten. Wir werden hierbei natürlich

nur Verbindungen berücksichtigen können, die nicht zugleich auch die Methylgruppe oder eine andere Kohlenwasserstoffgruppe enthalten.

Für die Methylengruppe CH_2 läßt sich insofern ein entsprechendes Resultat wie für die Methylgruppe formuliren, als dieselbe ernährt sowohl in Verbindung mit Hydroxyl wie Carboxyl; das Verhalten anderer Verbindungsformen hatte ich leider keine Gelegenheit zu studiren. Dagegen zeigen alle untersuchten Hydroxyl- wie Carboxylverbindungen übereinstimmend, daß die Methylengruppe einen ausgezeichneten Nährstoff darstellt und möchte ich ihr einen günstigeren Nährwerth zuschreiben, als der Methylgruppe.

Von CH haltigen Hydroxylverbindungen liefern die untersuchten Beispiele dafür den Beleg: Aethylenglycol, Glycerin, Erythrit, Dulcit, Mannit; ebenso die Säuren: Malonsäure, Bernsteinsäure, Glycolsäure, Glycerinsäure, Citronensäure, Itakonsäure, Aconitsäure, Glycocoll. Es gelangte überhaupt keine CH_2 haltige Substanz zur Untersuchung, welche nicht vorzüglich ernährt hätte. Wie die Malonsäure und die Glycolsäure zeigen, bedarf es nur einer einzigen CH_2 Gruppe im Molecül, um daselbe assimilirbar erscheinen zu lassen.

Während NÄGELI durch die Formulirung der Zusammenfassung seiner Resultate der CH_3 Gruppe keine Bedeutung beizumessen scheint,*) nennt er als Bedingung der Assimilirbarkeit einer Substanz, daß sie

*) NÄGELI l. c. pag. 401.

die CH_2 -Gruppe oder die CH -Gruppe enthalte; für die letztere Gruppe sei aber vielleicht die Beschränkung hinzuzufügen, daß sie nur dann ernähre, wenn 2 oder mehr C-Atome, an welchen H hänge, unmittelbar mit einander verbunden seien, zu welcher Limitation ihn die Ameisensäure veranlaßt.

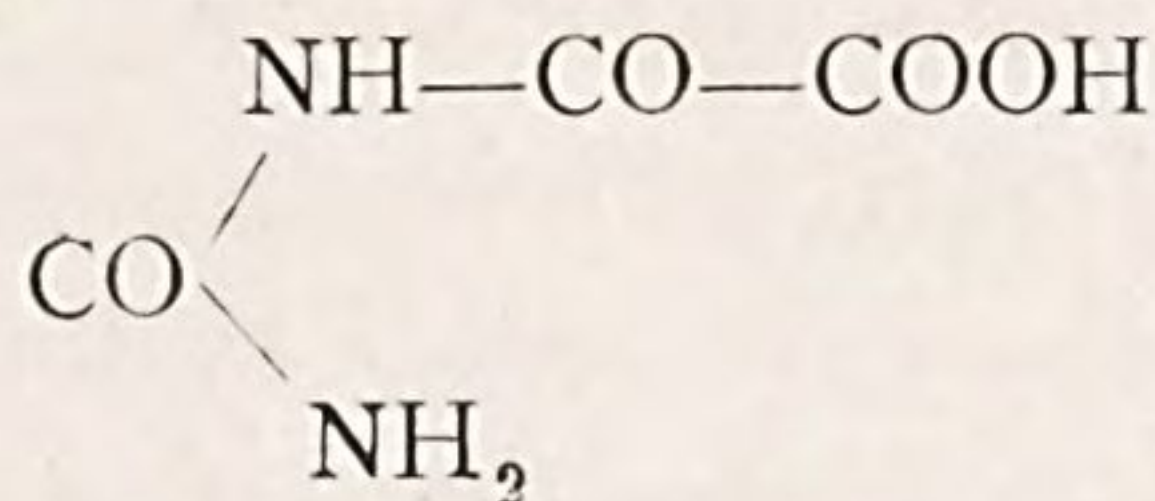
Auch für das Studium der Assimilationsfähigkeit der Gruppe CH stand mir leider nur wenig Material zu Gebot. Von Carboxylverbindungen ernährten alle, die untersucht wurden: Weinsäure, Schleimsäure, Fumarsäure; in allen drei Säuren hängen allerdings mehrere CH -Gruppen unmittelbar an einander. Von Hydroxylverbindungen kommt nur die nicht ernährende Ameisensäure in Betracht, die aber auch nicht assimilierbar wird, wenn man im Formamid das Hydroxyl durch NH_2 ersetzt.

In Bezug auf Ameisensäure und Formamid erscheint es mir wahrscheinlich, daß ihre Nichtassimilierbarkeit herrührt von der für Pilze unbrauchbaren Gruppe $\text{CHO}^*)$, welche darin mit OH oder mit NH_2 verknüpft auftritt. Interessant ist aber für den Nährwerth der CH -Gruppe das Allantoin, in welchem Kohlenstoff außer einmal als CH noch dreimal als CO vorkommt, und machen wir die Voraussetzung, daß diese Carbonylgruppen nicht ernähren, so würde aus dieser Substanz eine *isolierte* CH -Gruppe assimiliert werden.

Nunmehr erschien mir die Frage einer erweiterten Prüfung bedürftig, ob die Carbonylgruppe $\begin{array}{c} | \\ \text{C}=\text{O} \\ | \end{array}$ unter keinen Umständen ernährend wirken könne. Daß sie als Kohlenoxyd dies nicht vermag, ist bekannt, und STUTZER hat eine gleiche negative Wirkung für die Oxalsäure, NÄGELI für den Harnstoff nachgewiesen. Daraus zieht NÄGELI die allgemeine Folgerung, daß Kohlenstoffatome nur dann assimilierbar sind, wenn sie unmittelbar mit Wasserstoffatomen zusammenhängen, wofür ja auch die meisten Versuche sprechen. Ich verwendete zum Zweck dieser Prüfung das Alloxan und die Paraban Säure, und

*) Das Verhalten des zur Pilznahrung brauchbaren Trioxymethylens gestattet leider keine Discussion, weil wir von der Structur desselben keine sichere Vorstellung haben.

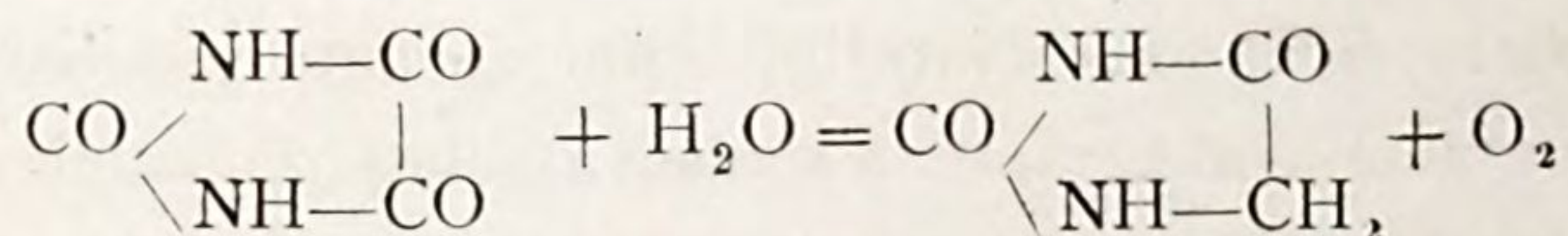
während ersteres sich wie Harnstoff, also negativ verhielt, war ich nicht wenig erstaunt, auf einer schwachen Lösung von anscheinend ganz reiner Parabanfäure*) lebhafte Vegetation von Penicillium-Rasen zu erhalten. In der Parabanfäure sind die drei Kohlenstoffatome als drei Carbonylgruppen vorhanden; *wir müßten hiernach für eine Verbindung die Möglichkeit der Assimilirbarkeit zugestehen, wenn sie den Kohlenstoff auch nur als Carbonyl enthält.* Ob die CO-Gruppe in diesem Falle direkt als Protoplasma-Bildnerin zur Geltung gelangt, ist darum aber doch noch fraglich. Wenn man freilich annehmen wollte, durch den Vegetationsproceß des Pilzes würde die Parabanfäure gespalten, so wäre auch damit nichts gewonnen, denn die Spaltungsproducte würden *Harnstoff* und *Oxalsäure* sein, welche wir als nichtassimilirbar kennen; ebenso könnte allenfalls Oxalursäure durch Hydratation aus der Parabanfäure entstehen, allein auch die Oxalursäure



enthält keine Kohlenwasserstoffgruppen. Immerhin ist das Verhalten der Parabanfäure im Vergleich zum Harnstoff und der Oxalsäure ein solches, daß wir annehmen müssen, es gehen mit dem in die lebende Zelle eingetretenen Parabanfäuremolecül Umsetzungen vor, welche Wasserstoff an die Stelle von Sauerstoff setzen, und daß dieser Wasserstoff in letzter Instanz aus Wasser stammen muß, wird durch die Entwicklung der Pilze und die Multiplication ihrer Trockensubstanz in einer Parabanfäure-Lösung bewiesen.

Einen solchen Reductionsproceß unter Einwirkung der Kräfte des Protoplasma einerseits und von Wasser andererseits würde man sich in folgender Weise verlaufend denken können:

*) Ich kann nur versichern, daß die von mir benutzte Parabanfäure so rein war, wie man sie nur durch wiederholtes Umkrystallisiren bekommen kann. Jedenfalls wäre es sehr erwünscht, wenn auch von anderer Seite die Parabanfäure auf ihr Ernährungsvermögen geprüft würde, da sie in meinen Versuchsreihen der einzige Körper war, welcher eine Ausnahme von den allgemeinen Regeln bildete.



Das hierbei entstehende Reductionsproduct wäre *Hydantoin* und enthielte eine CH_2 -Gruppe, so daß seiner Assimilirbarkeit theoretisch keine Bedenken im Wege stehen würden. Wie dem auch sein mag, auf jeden Fall ist das unerwartete Verhalten der Parabensäure ein höchst interessantes und beachtenswerthes, und bietet bislang in den Vorgängen der Kohlenstoffassimilation das einzige Seitenstück dar zur Assimilation der Kohlenensäure durch das chlorophyllhaltige Plasma, indem in beiden Fällen der Kohlenstoff ausschließlich als Oxyd der Pflanze geboten wird; Mitwirkung des Lichtes ist aber bei der Assimilation der Parabanensäure unnöthig.

Daß die Benzylgruppe C_6H_5 ernährt, geht zunächst unzweifelhaft aus dem Verhalten der Benzoensäure hervor; daß die aromatischen Oxy Säuren (Salicylsäure, Protocatechusäure, Gallussäure) ein solches Ergebniss liefern, steht in Parallele zum Verhalten der Oxy Säuren der Fettreihe. Auch als Hydroxylverbindung ernährt die C_6H_5 Gruppe, namentlich wenn sie selbst noch eine weitere Hydroxylierung erfährt und dadurch zur C_6H_4 Gruppe wird. Demnach können die aromatischen Radicale C_6H_5 , C_6H_4 , C_6H_3 und C_6H_2 als assimilirbar gelten.

Ich glaube, daß im Vorstehenden die wesentlicheren Ergebnisse der Untersuchung berührt sind, sofern die Frage nach der Assimilirbarkeit der einzelnen kohlenstoffhaltigen Atomgruppen dabei in Betracht kommt. Es ist nun noch der Umstand näher ins Auge zu fassen, daß den Pilzen die Art der Verbindung nicht gleichgültig ist, in welcher ihnen die Gruppen CH , CH_2 und CH_3 dargeboten werden.

Daß die Pilze die Kohlenhydrate am leichtesten assimiliren, dürfte in dem Umstande begründet sein, daß sie dieselben am direktesten, ohne bedeutende, als Mittelglieder des Assimilationsprocesses auftretende Zersetzungen verwerthen können. Ein gleiches scheint von den mehratomigen Alkoholen, wie Glycerin, Erythrit, Dulcit zu gelten;

während dagegen die einatomigen Alkohole als Nährstoffe von zweifelhaftem Werth erscheinen. Eine unbedingt bevorzugte Stellung nehmen aber unter den assimilirbaren Substanzen die kohlenstoffhaltigen *Säuren* ein; ist in ihnen eine CH -, CH_2 - oder CH_3 -Gruppe vorhanden, so scheinen sie unter allen Umständen zu ernähren, die CH_3 - und die C_2H_5 -Gruppe können sogar durch die betreffenden Aetherschwefelsäuren leicht in den Organismus des Pilzes Eingang finden.

Die Säure ist also eine Verbindungsform, welche sich für die Ernährung der Pilze in ganz besonderem Masse geeignet erweist. Wir dürfen wohl kaum annehmen, daß jedes Säuremolekül unverändert etwa zum Aufbau eines Eiweißmoleküls als Baustein Verwendung finden könne. Einmal wird der Rest, mit welchem im Assimilationsvorgange die Säure sich zu verbinden hat, doch wahrscheinlich ein constanter sein, da auch das resultirende Eiweißmolekül stets das Gleiche sein dürfte: dann aber muß es einen großen Unterschied ausmachen, ob dem Pilze etwa Essigsäure oder eine so lange Kette von Kohlenstoffatomen, wie in der Citronensäure, der Aconitsäure u. a. dargeboten wird. Die einfachste Vorstellung, die wir uns über die hierbei stattfindenden Prozesse bilden können, ist wohl diese, daß solche unbeholfen große Moleküle durch die Thätigkeit der lebenden Zelle in kleinere, zur Ernährung geeignete Atomgruppen zunächst gespalten werden, und daß diese Spaltungsproducte als Baustoffe dienen. Wenn auch die Carboxylgruppe, wie die ernährungsphysiologische Indifferenz der Oxalsäure lehrt, niemals als Baustoff dient, so ist sie doch offenbar von Bedeutung als *Vehikel*, durch welches Kohlenwasserstoffgruppen in den protoplasmatischen Organismus eingeführt werden. Nun aber liegt es auf der Hand, daß bei einer Spaltung z. B. der Fumarsäure andere Bruchstücke entstehen müssen, als bei derjenigen der Bernsteinsäure, und darum gelangen wir zu der Frage, ob durch Spaltung und vielleicht damit verbundene Oxydation stets eine kleine Atomgruppe von constanter Zusammensetzung als erstes Assimilationsproduct in allen Fällen gebildet wird? Für eine Theorie der Assimilation des Kohlenstoffes — zunächst durch Pilze — wäre dies der einfachste, glatteste und darum willkommenste Fall. That-

fächliche Momente lassen sich freilich zu seinen Gunsten nicht beibringen, obwohl dadurch zur Zeit auch noch nichts *gegen* eine solche Annahme ausgefagt wird. Die einfachsten, zur Ernährung geeigneten Carboxylverbindungen sind die Essigsäure und die Malonsäure; in der einen ist eine CH_3 -, in der anderen eine CH_2 -Gruppe vorhanden; ein Zerbrechen des Fumarsäuremoleküls an der Stelle der doppelten Bindung würde Carboxylgruppen mit einem CH-Rest liefern. Daraus eine constante Atomgruppe als einheitliches Assimilationsproduct auch nur theoretisch ableiten zu wollen, dürfte immerhin misslich sein.

Dafs die kleineren kohlenstoffhaltigen Bausteine in der lebenden Pflanzenzelle durch Condensation oder Synthese unter Wasseraustritt zu grösseren Atomcomplexen sich vereinigen, dafür spricht mancherlei; in die einzelnen Phasen dieser Prozesse zu blicken, verbietet uns aber unsere derzeitige Unkenntnis der Structur der als Endglieder der progressiven Stoffmetamorphose anzusprechenden Verbindungen.

Auch mit Rücksicht auf den zuletzt berührten Punkt ist es bemerkenswerth, dafs der grössere Theil der Anhydridverbindungen für die Ernährung von Schimmelpilzen entschieden ungünstig zu sein scheint. Ueberblicken wir die lange Reihe der auf ihr bezüglichen physiologisches Verhalten geprüften Esterarten, so ergibt sich, dafs Verbindungen dieser Form, welche eine Methylgruppe enthalten, gar nicht ernähren, wie z. B. Methylformiat, welches noch dazu eine der Essigsäure isomere Zusammensetzung besitzt; zahlreiche andere Ester, deren Säure-Gruppe in der Verbindung mit Metallen einen durchaus guten Nährboden für Schimmelpilze abgeben, liessen erst die Entwicklung von *Penicillium* erkennen, nachdem vorher *Bakterien* darin aufgetreten waren, von denen man wohl annehmen darf, dafs sie eine Spaltung des Esters bewirkten, so dafs erst eins der hierbei entstehenden Spaltungsproducte — vielleicht in allen Fällen Essigsäure — dem Schimmelpilze als Nährstoff dient; auch in den wenigen Fällen, wo frühzeitig Schimmelpilze in reichlicher Menge in der Lösung auftraten, wie beim Aethylmalonat und Aethylsuccinat, geht die Einnistung von *Bakterien* denselben voraus. Aber auch Schimmelpilze selbst besitzen anerkannter Mafsen die Fähigkeit, Anhydride zu

spalten; bekanntlich besteht die bequemste Methode der Darstellung von Gallusäure darin, daß man eine Lösung ihres Anhydrids, des Tannins, mit *Penicillium* inficirt, nach dessen Entwicklung bald eine Spaltung des Tannins in zwei Moleküle Gallusäure eintritt. Auch hat ja bereits PASTEUR gezeigt, daß Schimmelpilze die Traubensäure in Rechts- und Linksweinsäure zerlegen. Es ist wahrscheinlich, daß den Pilzen ganz allgemein das Vermögen zukommt, Verbindungen, in welchen der Sauerstoff nach dem Typus $C-O-C$ enthalten ist, durch Vermittlung von Wasseraufnahme in Verbindungen vom Typus $2(C-OH)$ zu verwandeln. Innerhalb der lebenden Pflanzenzelle dürften daher die Anhydride nur der regressiven Stoffmetamorphose *direkt* nutzbar gemacht werden können, mithin als Energiequelle dienen, während die constructive Arbeit des Protoplasma gerade darin besteht, Verbindungen vom Typus $C-O-C$, also Anhydride, aufzubauen.

Daraus würde dann auch folgen, daß Synthesen in der Pflanzenzelle durch Spaltungen eingeleitet werden können. Daß gerade die Carboxylgruppe ein so sehr geeignetes Vehikel für die Einführung von Kohlenwasserstoffgruppen darstellt, dürfte wohl seinen Grund darin haben, daß Säuren sich besonders für Synthesen unter Wasseraustritt eignen.

Noch mancherlei Betrachtungen ließen sich an die oben mitgetheilten Versuche anknüpfen, die aber, als nicht die Hauptpunkte betreffend, an dieser Stelle fallen gelassen fein mögen. Im Allgemeinen sieht man, daß ein großer Theil vegetabilischer Stoffwechselproducte wieder zur Regeneration von Protoplasma zu dienen vermag, ein anderer (z. B. Cumarin, Theobromin) nicht. Für die einzelnen Pflanzen, in denen jene Substanzen gebildet wurden, ergeben sich daraus specielle Fragen.

Hier soll nur noch einmal des Assimilationsprocesses der Kohlenäure durch chlorophyllhaltige Pflanzen gedacht werden. Man pflegt diesen Proceß als einen von der Assimilation kohlenstoffhaltiger Substanzen durch Pilze fundamental verschiedenen hinzustellen, und in verschiedener Beziehung hat man darin nicht Unrecht. So aus kos-

mologischem Gesichtspunkte, indem die grüne Zelle durch das ihr ausschließlich zukommende Vermögen, den Kohlenstoff in höchst oxydierter Form zu assimiliren, in einen Gegensatz tritt zu den nicht grünen Zellen, welchen der Kohlenstoff in oxydirbarer Form geboten werden muß, um assimilirt werden zu können. Aus chemischem Gesichtspunkt erscheint die enorme Reductionsarbeit, welche das chlorophyllhaltige Plasma mit Hülfe des Sonnenlichtes vollbringt, ebenfalls als etwas singuläres, aber doch kaum größer als die Reduction von Schwefelsäure zu Schwefelwasserstoff durch Pilze. Wenn wir aber diesen ganz speciellen Reductionsprocess außer Acht lassen, so ist die Kohlenfäure eben auch nur ein Glied in der großen Reihe der Carbonfäuren, und unter diesen bildet sie mit der Ameisensäure und Oxalsäure eine kleine Gruppe von Verbindungen, welche für die chlorophyllose Zelle nicht assimilirbar sind. Unter diesem Gesichtspunkt verschwindet der Gegensatz »organischer« und »unorganischer« Substanz, welcher in der obengedachten kosmologischen Betrachtung das Hauptmotiv abgiebt, denn auch wenn in der unbelebten Erdrinde Ameisensäure und Oxalsäure, allgemein als organische Verbindungen bezeichnet, in Fülle existirten, würden farblose Zellen damit nicht ernährt werden können; während, wenn unsere Kalkfelsen aus Acetaten und Glycolaten bestünden, die Welt der Organismen des Chlorophylls nicht bedürfte. In der Structur, nicht in einer willkürlichen Klassificirung, liegt somit das für die Assimilirbarkeit einer Substanz entscheidende Moment, und Kohlenwasserstoffgruppen sind es, welche man in den Organismus einführen muß, um ihn zu ernähren und seine Substanz anwachsen zu lassen.

III.

Ueber Turgescenz
und
Vacuolenbildung im Protoplasma.

Von

J. Reinke.

Die für die Mechanik des Pflanzenlebens so wichtigen Vorgänge der Turgescenz sind vorwiegend, ja fast ausschließlich an behäuteten Zellen studirt worden. Die Grunderscheinungen, um welche es sich dabei handelt, sind ganz einfacher Art und daher eines elementaren mathematischen Ausdrucks fähig, wie ich an anderer Stelle gezeigt habe;*) es handelt sich um einen hohlen Körper, in dessen Innerm ein gröfserer Druck herrscht, als Aussen, so dafs hierdurch eine Spannung der Wand hervorgerufen wird; die Gröfse dieser Spannung ist ausschliesslich abhängig von der Gröfse der Druckdifferenz. Bezeichnen wir die Spannung mit S , den inneren Druck mit I , den äufseren mit A , so läfst sich dies Gesetz in dem Ausdruck formuliren:

$$S = I - A$$

Die Elasticität und Dehnbarkeit der Wand ist also für die Gröfse der Spannung in derselben ganz gleichgültig, so lange dieselbe hinreicht, ein Zerplatzen zu verhüten.

Die gewöhnliche, behäutete Pflanzenzelle liefert einen Specialfall, insofern hier der Turgor durch Aufnahme von Wasser durch eine filtrirende Wand erzeugt wird. Diese Wand ist eine zweifache, die Zellhaut eine leichter, die Hautschicht des Protoplasma eine schwieriger filtrirende Membran. Für dies ganze System ist natürlich auch die allgemeine Gleichung $S = I - A$ gültig, nur ist zu beachten, dafs die Gröfse I abhängt von der Gröfse des Filtrationswiderstandes in der protoplasmatischen Hautschicht, während eine zu starke Aus-

*) Vgl. mein Lehrb. d. allg. Bot. S. 428 u. 429.

dehnung derselben durch die Elasticität der Zellhaut gehindert wird. —

Danach finden die gleichen mechanischen Wechselwirkungen wie in einer Pflanzenzelle statt in einem dünnen Kautschukballon, in den man Luft oder Wasser unter höherem als Atmosphärendruck hineinpumpt und dessen Ausdehnung durch ein feines Drahtnetz beschränkt wird.

Wir können daher, insbesondere wenn die Turgescenz der Zelle innerhalb der Dehnbarkeitsgrenze der protoplasmatischen Hautschicht bleibt, für die Untersuchung des Turgors von der Zellhaut gänzlich absehen und uns auf den Protoplasmaleib der Zelle beschränken.

Dafs isolirte Protoplasamassen bei Berührung mit Wasser an ihrer ganzen Oberfläche eine Hautschicht von membranartiger Consistenz bilden, ist bekannt. Der Vorgang dieser Membranbildung dürfte ein ziemlich complicirter sein. Zunächst muß aus dem Aggregatzustande des Protoplasma eine Oberflächenspannung resultiren, welche gewisse Substanztheilchen desselben zur Annäherung an einander zwingt und die gröberen Körnchen in das Innere drängt; diese Spannungsmembran wird aber sicher verstärkt durch eine chemische Verdichtung, welche wir uns vielleicht als einen Gerinnungsproceß vorstellen dürfen.

Diese protoplasmatische Hautschicht besitzt eine nicht unbeträchtliche Dehnbarkeit; auch ist nicht ausgeschlossen, dafs sie bei stärkerer Ausdehnung ein Flächenwachsthum durch Intusfussception erfährt nach Analogie der TRAUBE'schen Niederschlagsmembranen.

Als bekanntestes Beispiel für dies Verhalten gelten die Klumpen und Tropfen von Protoplasma, welche man aus verletzten Fäden von *Vaucheria* zum Austritte bringt; sie bekleiden sich zunächst mit einer consistenten Hautschicht und turgesciren dann unter lebhafter Ausdehnung durch Aufnahme von Wasser, welches sich größtentheils im Innern in Form von Vacuolen wieder ausscheidet. Aehnlich verhalten sich viele Schwärmsporen, welche, bevor sie eine Zellwand bildeten, in pathologischer Weise turgesciren und dabei im Innern große, wassererfüllte Vacuolen zeigen.

Ein sehr hübsches Beispiel für dies Turgesciren des Protoplasma können auch die Plasmodien der Myxomyceten darbieten, wenn man dieselben im Kulturraum sehr feucht hält. Herr Dr. KRÄTZSCHMAR, welcher in meinem Laboratorium zu anderen Zwecken Plasmodien von *Aethalium septicum* aus Sclerotien in Feuchtkammern erzog, erhielt hierbei ganz eigenthümlich deformirte Gebilde, die er auf mein Anfuchen zeichnete und wovon auf Taf. I eine Darstellung gegeben ist. Diese Plasmodien waren unter der Einwirkung von Wasser sehr stark aufgeschwollen, ihre Hautschicht war in mancherlei Vorsprüngen wie eine Membran aufgetrieben und im Innern hatte sich, wenigstens in den peripherischen Theilen des Plasmodiums, viel wässrige Flüssigkeit in der Form großer Vacuolen ausgeschieden, die von feinen Platten und Strängen aus Protoplasma durchsetzt wurden, wie der Saft Raum einer Parenchymzelle aus dem Gewebe einer höheren Pflanze.

In Fig. 1 ist ein kleines derartig verändertes Plasmodium bei schwacher Vergrößerung gezeichnet; Fig. 2 und 3 stellen Stücke aus der Randparthie desselben bei stärkerer Vergrößerung dar; Fig. 4 eine Stelle aus dem Netzwerk des Innern mit Kernen, sehr stark vergrößert. Nach Außen ist das Protoplasma durch eine zwar sehr feine, aber doch deutlich doppelt contourirte Hautschicht abgegrenzt, gegen die Vacuolen hin läßt sich, wie Fig. 4 zeigt, eine solche Hautschicht nicht wahrnehmen.

In diesem Zustande starker Turgescenz und Vacuolenbildung waren am Plasmodium noch leichte Bewegungen wahrzunehmen, dasselbe starb dann jedoch sehr bald ab; der ganze Zustand war natürlich ein pathologischer.

Es fragt sich, ob aus diesem Falle krankhafter Deformation sich Anhaltspunkte gewinnen lassen zur Beurtheilung des Verhaltens eines normalen Plasmodiums gegenüber dem Wasser. Offenbar ist die Aufnahme von Wasser seitens des letzteren eine beschränkte, weil man normal die Bildung von Vacuolen gar nicht oder doch nur äußerst selten beobachtet, und dann sind es sehr kleine, bald wieder verschwindende Vacuolen; im Allgemeinen ist das Protoplasma der Plasmodien von *Aethalium* vacuolenfrei. Dennoch muß es bei der

osmotischen Aufnahme von Wasser in das Innere des Plasmodiums zu einer Spannung zwischen dem körnerführenden, inneren Protoplasma und der Hautschicht kommen, sobald die Cohäsion und mit dieser die Elasticität der letzteren größer ist, als die der inneren Masse. An der membranartigen Festigkeit der Hautschicht läßt aber unser abnormes Plasmodium keinen Zweifel. Ob diese Hautschicht unter starker Vacuolenbildung blasig aufgetrieben wird oder nicht, dürfte als secundäres Moment aufzufassen sein; bei ihrer größeren Festigkeit muß eine hydrostatische Spannung derselben auch im normalen Plasmodium als sicher erscheinen, das letztere also sich im Zustande der Turgescenz befinden.

Immerhin ist es von Interesse zu sehen, wie durch eine pathologisch gesteigerte Aufnahme von Wasser und Ausscheidung desselben in Vacuolen eine ganz ähnliche Configuration des Protoplasmakörpers erzeugt wird, wie wir sie aus den Parenchymzellen kennen; es beweist dies gegenüber der hier und da hervorgetretenen Auffassung, diese Configuration sei das Resultat eines ganz besonderen Wachstumsprocesses, daß sie vielmehr als die nothwendige Folge gewisser physikalischer Wechselwirkungen erscheint.

Die Ausscheidung von Vacuolen im Innern eines homogenen Protoplasma ist eine Folge von Ueberfättigung mit Wasser. Das Stoffgemisch, welches im Protoplasma vorliegt, hatte durch osmotische Anziehung sich mit Wasser gefättigt; wir können uns nun verschiedene Urfachen vorstellen, die zu jener Entmischung hinführen, welche in der Vacuolenbildung zur Beobachtung gelangt. Wenn das Protoplasma innerhalb seiner Hautschicht sich ganz wie eine Flüssigkeit verhielte, also rein hydrostatischen Gesetzen folgte, so müßte der Druck an jedem Punkte der gleiche sein. Dann könnten nur locale chemische Veränderungen die Ausscheidung von Wasser an einzelnen Stellen veranlassen. Es läßt sich aber auch die Auffassung vertheidigen, daß das Protoplasma sich in seinem physikalischen Verhalten insofern von einer Flüssigkeit entfernt, als an einzelnen Stellen Orte abweichenden Druckes sich bilden, oder vielmehr die mit der Aufnahme von Wasser verbundene Drucksteigerung sich nicht

fogleich und mit gleicher Geschwindigkeit zu allen Punkten des Innern fortzupflanzen vermag; dann können Druckdifferenzen die Ursache einer localen Entmischung und Vacuolenbildung werden; welche Ursache in Wirklichkeit obwaltet, ist schwer zu entscheiden.

An anderer Stelle habe ich darauf hingewiesen,*) daß der Saft-raum, die große centrale Vacuole der Parenchymzellen, ein Organ darstellt zur Aufnahme von Ausscheidungsproducten des Protoplasma. Das letztere bildet im Verlaufe seines Stoffwechsels vielfach Substanzen, deren es sich gerne, wenigstens zeitweilig, entledigt. Eine Secretion nach Außen wird durch den Verband der Zellen erschwert, sie erfolgt daher nach Innen; und da nun in einer folgenden Entwicklungsperiode die Pflanze von den meisten der in den Saft-raum ausgeschiedenen Stoffe wieder Gebrauch zu machen weiß, so haben wir darin eine eminente Nützlichkeitsvorrichtung zu erblicken; während einerseits in seiner Funktion sich der Saft-raum im Innern der Zelle mit der thierischen Harnblase vergleichen läßt, dient derselbe andererseits zur Speicherung von Reservestoffen.

Ich zweifle nicht daran, daß die Lebensthätigkeit des pflanzlichen Protoplasma ebenso gut stets Ausscheidungen gewisser Stoffe mit sich bringt, wie diejenige des thierischen. Wo nun ein solches Organ zur temporären Ansammlung der Ausscheidungsproducte, wie im Saft-raum, fehlt, also bei den Plasmodien der Schleimpilze, da werden diese ihre Ausscheidungsstoffe an der Oberfläche absondern müssen, folglich mit einem größeren Substanzverluste arbeiten als die behüteten Parenchymzellen. In der That erblickt man die Oberfläche der Plasmodien mit schleimigen Ausfönderungen bedeckt und verbleiben dieselben theilweise auf dem Substrate, über welches ein Plasmodium hinweggekrochen ist.

Von den Abbildungen der zugehörigen Tafel ist Fig. 1 60fach, Fig. 2 220fach, Fig. 3 330fach, Fig. 4 1375fach vergrößert; in den stärker vergrößerten Figuren treten die zahlreich vorhandenen Zellkerne**) deutlich hervor

*) Zeitschr. f. physiol. Chemie VI. S. 263.

**) Ich bemerke ausdrücklich, um etwaigen irrigen Muthmaßungen vorzubeugen, daß die als Kerne bezeichneten Gebilde nicht etwa Sclerotiumzellen sind; letztere sind viel größer.

IV.

Ueber das Vorkommen
und
die Verbreitung flüchtiger reducirender
Substanzen im Pflanzenreiche.

Von

J. Reinke und L. Krätzschar.

I.

Der Gedanke von BAEYER, daß im Proceß der Kohlenensäure-Zersetzung durch grüne Zellen im Sonnenlicht *Formaldehyd* als Assimilationsproduct der Pflanze gebildet werde, muß als die zur Zeit befriedigendste theoretische Vorstellung von diesem Proceß gelten, sobald wir wegen der beobachteten Constanz des Gasvolumens die Voraussetzung machen, daß ein Körper von der Zusammensetzung $C_n H_{2n} O_n$ gebildet werde. BAEYER hat die Bildung von Formaldehyd aus rein theoretischen Betrachtungen erschlossen, und daß die theoretisch-chemische Combination den Werth einer selbständigen wissenschaftlichen Untersuchungsmethode besitzt, werden wohl nur diejenigen leugnen mögen, welche der Entwicklung der Chemie nicht gefolgt sind. Dennoch kann eine auf diesem Wege gewonnene Vorstellung über den Proceß der Kohlenstoffassimilation in grünen Pflanzen nur dann auf die Dauer genügen, wenn sich experimentelle Stützen für dieselbe beibringen lassen. Derartige Verstärkungen dieser Vorstellung durch Thatfachen dürfen sowohl von der Chemie wie von der Pflanzenphysiologie erwartet werden; von der Chemie, indem dieselbe mit größerer Sicherheit als bisher geschehen den Nachweis liefert, daß zuckerartige Körper, wie sie in der Pflanze vorkommen, in der That durch Condensation von Formaldehyd gebildet werden oder doch von solchen Condensationsproducten deriviren können; von der Botanik, indem diese Wissenschaft die Bildung von Formaldehyd oder eines unmittelbaren unzweifelhaften Abkömmlings desselben in chlorophyllhaltigen Pflanzentheilen direkt nachweist.

Zu einem Versuche in dieser letzteren Richtung mögen die Untersuchungen einen Beitrag liefern, über welche im Nachfolgenden berichtet werden soll.*)

Ein Versuch zum Nachweis von Formaldehyd mußte zunächst eine Abscheidung desselben von der Hauptmasse des Stoffgemenges, welches den Pflanzenkörper zusammensetzt, ins Auge fassen; der Weg hierzu ist durch den Umstand angezeigt, daß der Formaldehyd in wässriger Lösung sich mit Wasserdämpfen verflüchtigt. Wird Formaldehyd in der grünen Pflanzenzelle gebildet, gleichgültig ob im Innern der Chlorophyllkörner, oder an deren Oberfläche, oder in der Nähe derselben im farblosen Protoplasma, immer muß sich derselbe wegen seiner leichten Löslichkeit im Protoplasma und im Zellsaft ausbreiten können. Ein Nachweis dieser Substanz wird aber nur in dem Falle möglich sein, daß nicht der sämmtliche durch Wirkung des Lichtes gebildete Formaldehyd sogleich in oder an den Chlorophyllkörnern zu Polymerisirungen verbraucht wird, sondern daß ein Rest desselben unverändert sich in der ganzen assimilirenden Zelle verbreitet und eine Zeitlang erhält; es ist sogar nicht unwahrscheinlich, daß, da die Bedingungen für Condensation des Formaldehyd doch voraussichtlich im Protoplasma die günstigeren sind, in den Zellsaft hineindiffundirter Formaldehyd sich hier am längsten unverändert erhalten werde.

Auf diese Erwägungen gründete sich das eingeschlagene Verfahren. Grüne Pflanzentheile wurden möglichst fein zerkleinert, theils in einer Fleischzerkleinerungsmaschine, theils durch Verreiben in einem Porcellanmörser, der Saft unter meist sehr hohem Drucke abgepresst und der Destillation unterworfen, mitunter auch der Blätterbrei selbst vorsichtig destillirt; war Formaldehyd in den Pflanzenzellen vorhanden, so mußte er in das Destillat übergehen.

Das Destillat des ausgepressten Pflanzensaftes enthält aber natürlich sämmtliche mit Wasserdämpfen flüchtige Stoffe, welche in der

Vorläufige Mittheilungen über diese Arbeiten finden sich im zweiten Hefte der »Untersuchungen aus dem botanischen Laboratorium in Göttingen« S. 187 und in den Ber. d. d. chem. Ges. 1881, S. 2144.

Pflanze überhaupt vorkommen. Unter diesen gelingt es nur eine Kategorie zurückzuhalten, nämlich die stets vorhandenen flüchtigen Säuren, indem man den Saft — oder auch den zerkleinerten Blätterbrei — durch Alkalien neutralisirt; es wurde daher nur von Pflanzenfästen abdestillirt, welche vorher durch Zusatz einer geeigneten Menge von Natriumcarbonat schwach alkalisch gemacht worden waren.

Das unter diesen Vorichtsmafsregeln erhaltene Destillat mußte weiter darauf geprüft werden, ob nach den Reaktionen desselben Formaldehyd darin enthalten sein konnte. Dies war zunächst nur in sehr allgemeiner Weise möglich, da der Formaldehyd im Wesentlichen die Reaktionen der übrigen Aldehyde der Essigsäurereihe theilt: derselbe reducirt höchst energisch alkalische Silberlösung, weniger kräftig auch alkalische Kupferlösung. Wenn demnach das Destillat der Pflanzenfäste keine reducirende Wirkung auf die genannten Metallösungen zeigen würde, so würde auch Formaldehyd in demselben nicht enthalten sein können.

Die Probe fiel bestätigend aus; alle untersuchten Destillate von grünen Pflanzentheilen reducirten deutlich alkalische Silberlösung bei niedriger Temperatur, grofsentheils auch deutlich alkalische Kupferlösung. Beispielsweise mögen hier einige Notirungen aus den Untersuchungs-Protocollen angeführt sein.

Vicia Faba: 80 Gramm abgepresster Saft der grünen Theile wurden destillirt; Fraktion*) I des Destillats reducirte Fehling'sche Lösung sehr deutlich; Fraktion II reducirte nur noch schwach; Fraktion III reducirte Fehling'sche Lösung gar nicht mehr.

Robinia Pseudacacia: 100 Gramm Blätterbrei wurden direkt destillirt. Fraktion I reducirte Fehling höchst intensiv; II noch sehr deutlich, doch schon weit schwächer; III ebenfalls noch; IV reducirte Fehling nicht mehr.

Salix aurita: 60 Gramm des Saftes wurden destillirt. Sämmtliche Fraktionen des Destillats zeigten ein fast gleiches, sehr energisches Reductionsvermögen gegen Fehling'sche Lösung.

*) Jede Fraktion des Destillats betrug etwa 2 Cubikcentimeter.

Asparagus officinalis: 250 Gramm Blätterbrei wurden destillirt. Die erste Fraktion des Destillats wirkte auf Fehling'sche Lösung kaum ein, bewirkte jedoch in alkalischer Silberlösung in der Kälte nach wenigen Minuten eine tintenschwarze Ausfällung.

Mougeotia genuflexa: 600 Gramm der frischen Pflanze wurden destillirt, das erhaltene Destillat von 30 *ccm* nach genügendem Zusatz von Natriumcarbonat abermals destillirt. Die erste Fraktion dieses zweiten Destillats schied aus alkalischer Silberlösung beim Stehen in der Kälte einen deutlichen Silber Spiegel ab. —

In Bezug auf die angewandten Reagentien sei noch bemerkt, daß die Silberlösung sich weitaus empfindlicher erweist als die nach der Vorschrift von FEHLING hergestellte Kupferlösung, weil die letztere eine gewisse Quantität von Kupferoxydul in Lösung zu halten vermag und dasselbe erst im Ueberschuß ausfallen läßt. Die Silberlösung ward vor dem Gebrauche stets frisch bereitet durch Versetzen von etwa einem halben Probirröhrchen voll verdünnter Ammoniaklösung mit ein paar Tropfen einer 10procentigen Lösung von Silbernitrat und 1 bis 2 Tropfen einer starken Lösung von Natriumhydroxyd. Dieses Reagens ward mit dem erhaltenen Destillat aus Pflanzentheilen versetzt und einige Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassen oder höchstens auf 30 bis 40° C. erwärmt; war die reducirende Substanz vorhanden, so schied sich in wenigen Minuten ein Niederschlag von metallischem Silber, häufig in Gestalt eines das Glas überziehenden Spiegels aus. Bis zum Kochen wurde nicht erhitzt, weil dann auch bei Abwesenheit des stark reducirenden Körpers, auf dessen Vorhandensein wir prüften, namentlich wenn nach dem Kochen stehen gelassen wird, leicht Bräunung und Trübungen entstehen.

II.

Nachdem durch die Vorversuche festgestellt war, daß *flüchtige* Substanzen, welche Fehling'sche Lösung reduciren, sich aus grünen Blättern abscheiden lassen, handelte es sich zunächst weiter darum, ob diese Substanzen in den lebenden Blättern als solche vorkommen, oder erst durch den Destillationsproceß, d. h. durch Erwärmen mit Wasser, aus einer Muttersubstanz abgespalten werden. Das letztere war an und für sich unwahrscheinlich; dennoch wurden einige Versuche zur Prüfung dieses Umstandes ausgeführt, namentlich mit Rücksicht darauf, daß durch LÖW und BOKORNY während der Ausführung unserer Untersuchung auf Grund mikrochemischer Wahrnehmungen den Eiweißstoffen der lebenden Zelle reducirende Eigenschaften vindicirt worden waren.

Zu diesem Zwecke ward die von uns gemachte Beobachtung verwerthet, daß Destillate, welche den reducirenden Körper in reichlicher Menge enthalten, z. B. von Pappelblättern, im Stande sind, *eine verdünnte Lösung von Silbernitrat beim Stehen in der Kälte nach kurzer Zeit auch ohne Zusatz irgend eines Alkali zu reduciren*, was andere nicht flüchtige reducirende Stoffe der Pflanzenzelle, z. B. Glycose, nicht zu thun vermögen. Ebenfowenig geschieht dies von Seiten der Ameisensäure.

Demnach ward der aus 600 g Pappelblättern (unter Zusatz von etwas Wasser) abgepresste Saft durch wiederholtes Filtriren durch Glaswolle und Fließpapier geklärt und eine Probe davon in der Kälte mit neutraler Silberlösung versetzt; es erfolgte alsbald ein starker Niederschlag von metallischem Silber. Daß dieser nicht etwa durch das Licht aus gefallenem Chlor Silber erzeugt war, bewies ein Parallelversuch, wo sich ein Chlor Silber Niederschlag in dem gleichen diffusen Licht an der Hinterseite des Zimmers lange Zeit unverfärbt erhielt. Der übrige Saft ward mit Bleiacetat vollständig ausgefällt, der Niederschlag abfiltrirt, das überschüssige Bleiacetat durch Natriumcarbonat gefällt und das Bleicarbonat ebenfalls abfiltrirt. Eine Probe dieses letzteren Filtrats ward mit etwas Salpetersäure angeäuert und

theils mit neutraler, theils mit alkalischer Silberlösung versetzt; in beiden Fällen erfolgte eine energische Reduction. Der Rest des Filtrates, das ja keine Eiweißstoffe mehr enthalten konnte, wurde destillirt und das erhaltene Destillat reducirte sowohl Kupfer- wie Silberlösung ebenso stark, wie das Destillat des frischen Saftes.

Eine Wiederholung dieser Versuche mit *Salix* und *Vitis* führte zu dem gleichen Resultat, und sprechen diese Beobachtungen entschieden für die Präexistenz des reducirenden Körpers in den Blättern; ein anderes diese Auffassung bestätigendes Moment werden wir später kennen lernen.

III.

Von der größten Bedeutung war es, festzustellen, ob die Destillate chlorophyllhaltiger Pflanzentheile aus den verschiedensten Familien reducirende Eigenschaften besitzen, ob Fälle vorkommen, wo sich dieselben nicht nachweisen lassen oder ob das Vorkommen ein constantes ist. Wie schon aus den oben mitgetheilten Beispielen der Untersuchungs-Protocolle erhellt, verhalten sich die Destillate verschiedener Pflanzen keineswegs gleich; manche reduciren sehr energisch, so daß ein halbes Probirröhrchen voll Destillat einen wägbaren Niederschlag von Kupferoxydul zu erzeugen vermag, andere so schwach, daß sie durch Fehling'sche Lösung überhaupt gar nicht, sondern nur durch ihr Verhalten gegen Silbernitrat nachgewiesen werden können. Dann zeigte sich weiter ein Unterschied darin, daß bei der großen Mehrzahl der untersuchten Pflanzen die reducirende Substanz nur in den ersten Fraktionen des Destillats in reichlicherer Menge vorhanden war, während die späteren Fractionen nur Spuren davon oder gar nichts mehr enthielten. Bei einigen Pflanzen jedoch, zeigte sich auch in den letzten Fraktionen des Destillats kaum eine Abnahme des Reductionsvermögens. Hier mußte also eine weniger flüchtige Modification des Körpers, wahrscheinlich neben der gewöhnlich vorhandenen flüchtigeren, in der Pflanze gebildet worden sein.

Wo in der folgenden Uebersicht über die untersuchten Pflanzen nur bemerkt ist, daß die erste Fraktion (Fr. I) reducirte, soll damit

gefaßt sein, daß nur die flüchtigere Form der reducirenden Substanz vorhanden war. Wo eine Reduction von Fehling'scher Lösung beobachtet wurde, ist nicht noch besonders die Reduction von Silberlösung erwähnt. Die nachstehend aufgeführten Pflanzen wurden im Sommer 1881 untersucht

Vicia Faba. Fr. I reducirte Fehlings Lösung deutlich,.

Robinia Pseudacacia. Fr. I red. Fehling sehr intensiv.

Prunus Armeniaca. Fr. I red. Fehling schwach.

Rosa alpina. Fr. I red. Fehling deutlich.

Ribes petraeum. Fr. I red. Fehling schwach.

Ribes alpinum. Fr. I red. Silberlösung kräftig.

Saxifraga cordifolia. Fr. I red. Fehling deutlich.

Myrrhis odorata. Fr. I red. Fehling deutlich.

Saponaria officinalis. Fr. I red. Fehling kräftig.

Polygonum cuspidatum Fr. I red. Fehling deutlich.

Rheum palmatum. Fr. I red. Fehling schwach.

Impatiens parviflora Das Destillat red. Fehling in allen Fraktionen energisch, aber stärker in der ersten als in der letzten.

Acer pensylvanicum. Fr. I red. Fehling energisch.

Vitis vinifera. Fr. I red. Fehling sehr kräftig.

Ampelopsis hederacea. Fr. I red. Fehling schwach.

Salix aurita u. a. Sp. Das Destillat reducirt in allen Fractionen Fehling sehr kräftig.

Populus alba, balsamifera u. a. Sp. Das Destillat verhält sich wie bei den *Salix*-Arten.

Brassica oleracea. Fr. I red. Fehling energisch.

Papaver bracteatum. Fr. I red. Fehling deutlich.

Paeonia officinalis. Fr. I. red. Fehling deutlich.

Berberis Aquifolium. Fr. I red. Fehling deutlich.

Euphorbia orientalis. Fr. I red. Fehling sehr kräftig.

Statice Gmelini. Fr. I red. Fehling energisch.

St. latifolia u. *caspica.* Fr. I red. Fehling weniger kräftig.

Armeria maritima. Fr. I red. Fehling ziemlich kräftig.

Pyrethrum Myriophyllum. Fr. I red. Fehling sehr kräftig.

Helianthus erythrocarpus u. *annuus*. Fr. I red. Fehling schwach.

Cephalaria procera. Fr. I red. Fehling deutlich.

Valeriana dioica. Fr. I zeigte auf Fehling keine deutliche Einwirkung, reducirte aber die Silberlösung.

Symphoricarpus racemosa. Fr. I red. Fehling sehr energisch, die späteren Fraktionen weniger.

Symphoricarpus vulgaris. Red. Silberlösung in der Kälte sehr kräftig.

Lonicera coerulea. Red. Silberlösung sehr kräftig.

Cornus alba red. Silberlösung sehr kräftig.

Ligustrum vulgare red. Silberlösung sehr kräftig. *)

Gentiana lutea. Fr. I red. Fehling kräftig.

Veronica Beccabunga. Fr. I red. Fehling deutlich.

Verbascum nigrum. Fr. I red. Fehling deutlich.

Mentha aquatica. Fr. I red. Fehling deutlich.

Lycium barbarum. Fr. I red. Fehling kräftig.

Symphytum officinale. Fr. I red. Fehling schwach.

Convallaria Polygonatum. Fr. I red. Fehling kräftig.

Iris plicata. Fr. I red. Fehling energisch.

Asparagus officinalis. Fr. I wirkt auf Fehling äußerst schwach kräftig auf Silberlösung in der Kälte.

Zea Mays. Fr. I. red. Fehling deutlich.

Tsuga canadensis. Fr. I red. Fehling kräftig.

Taxus baccata red. Silberlösung.

Thuja plicata red. Silberlösung.

Pinus Pumilio red. Silberlösung.

Struthiopteris germanica. Fr. I red. Fehling deutlich.

Scolopendrium officinarum. Fr. I red. Fehling deutlich.

Hypnum Rutabulum red. Silberlösung energisch, auf Fehling war keine Einwirkung zu beobachten.

Halimolobos polypodioides red. Silberlösung kräftig.

Cystofira barbata red. Silberlösung kräftig.

Scytosiphon lomentarius red. Silberlösung sehr energisch, Fehling schwach.

*) Die letzten 4 Arten wurden auf ihr Verhalten gegen Fehlings Lösung nicht geprüft.

Gigartina Teedii red. Silberlösung energisch. *)

Mougeotia genuflexa. Fr. I des *rektificirten* Destillats red. Silberlösung kräftig.

Vaucheria sessilis verhält sich wie Mougeotia.

IV.

Nachdem festgestellt war, daß die flüchtige reducirende Substanz sich durch das ganze Gewächsreich verbreitet findet, soweit die Pflanzen Chlorophyll besitzen und unter normalen Lebensbedingungen vegetiren, war es von Wichtigkeit, einerseits die chlorophylllosen Wurzeln von Blütenpflanzen, andererseits die Pilze auf eben diese Substanz zu prüfen.

Es wurden zunächst eine Anzahl Wurzeln einer Salix, deren Blätterdestillat kräftig reducirte, zerkleinert, mit etwas Wasser versetzt und der Destillation unterworfen: das Destillat reducirte ziemlich kräftig Fehling'sche Lösung. Hierdurch ist der Beweis erbracht, daß der reducirende Körper auch in den Wurzeln chlorophyllhaltiger Gewächse, welche ihn in ihren Blättern besitzen, vorzukommen *vermag*, eine Thatfache, welcher bei der theoretischen Verwerthung dieser Untersuchung Rechnung getragen werden muß; von der Untersuchung anderer Wurzeln konnte Abstand genommen werden, da die Möglichkeit des Vorkommens in den Wurzeln durch diesen einen Versuch festgestellt worden war.

Von Pilzen wurden untersucht: Trametes suaveolens, Coprinus comatus, Polyporus albidus und nitidus, Agaricus sp., Boletus Satanas, Hydrocybe punicea, junge Fruchtkörper von Aethalium septicum. Die Pilze wurden mit Wasser verrieben und destillirt. Das Destillat wirkte weder auf Fehling'sche Lösung noch auf alkalische Silberlösung bei niedriger Temperatur; *die reducirende Substanz fehlt also den Pilzen vollständig.*

*) Von den letzten 4 Arten wurden die in Neapel gesammelten Exemplare frisch in der Sonne getrocknet, in Göttingen aufgeweicht und verarbeitet. Zu diesem Versuche hatte die Wahrnehmung Veranlassung gegeben, daß in der Sonne getrocknete Blätter von Pappeln und Weiden einen Theil ihrer flüchtigen reducirenden Substanz behalten.

Nunmehr war die Frage nahe gelegt, ob etiolirte Keimlinge von Blütenpflanzen, welche ihren Chlorophyllapparat in der Dunkelheit nicht auszubilden vermochten und daher auch nicht assimiliren konnten, die fragliche Substanz enthalten. Es wurden geprüft etiolirte Keimlinge von *Lupinus angustifolius*, *Impatiens Balsamine*, *Impatiens tricornis*, *Phaseolus multiflorus*, *Helianthus annuus*; das aus denselben erhaltene Destillat wirkte weder auf Fehling'sche noch auf alkalische Silberlösung bei niedriger Temperatur, während am Licht gezogene Keimlinge derselben Arten Silberlösung kräftig reducirten; von *Imp. Balsamine* wurde ein Theil der Keimlinge, welche zur Verarbeitung im etiolirten Zustande dienten und keine flüchtige reducirende Substanz enthielten, 10 Tage lang ans Licht gestellt und nunmehr reducirten sie deutlich Fehling'sche Lösung. Etiolirte Keimlinge von *Lepidium sativum* lieferten ein Destillat, welches beim Erwärmen mit der Silberlösung eine geringe Menge eines schwärzlichen Niederschlages bildete, der jedenfalls aus Silberfulfur bestand, da Senföle im Destillat enthalten waren, während das Destillat aus grünen, am Licht gewachsenen Kressekeimlingen bei gleicher Behandlung einen schönen Spiegel von metallischem Silber am Glase abschied.

Somit kann behauptet werden, *dass die reducirende Substanz in etiolirten Keimlingen derselben Gewächse fehlt, welche sie bei normaler Entwicklung am Lichte enthalten.*

Hiernach erscheint es einigermaßen sicher gestellt, dass diese Substanz ein Erzeugniss des Chlorophyllapparats unter Mitwirkung des Lichtes ist. Das Vorkommen in Wurzeln vermag an dieser Auffassung nichts zu ändern; denn wenn die Substanz in grosser Menge in den Blättern einer Pflanze sich anhäuft, in welcher die Bedingungen für ihre Conservirung günstig sind, so vermag sie auch durch den Stamm bis in die Wurzeln hinein sich auszubreiten. Immerhin war es unter diesen Umständen von Interesse, auch etiolirte Keimlinge von Coniferen auf die flüchtige reducirende Substanz zu prüfen.

Es wurden die deutlich ergrüntten Cotyledonen einer hinreichenden Anzahl von Finsterkeimlingen von *Picea excelsa*, *Pinus Pumilio* und *P. maritima* mit etwas Wasser zu Brei verrieben und die Masse

nach Neutralisation der Destillation unterworfen; *die erste Fraktion der Destillate gab keine Einwirkung auf Silberlösung bei niedriger Temperatur zu erkennen.* Es ist hiernach das Vorkommen der reduzierenden Substanz auf keinen Fall allein von der Chlorophyllbildung in einer Pflanze abhängig; es muß offenbar die Wirkung des Lichtes hinzutreten, um dieselbe zu erzeugen

V.

Bekannter Massen verschwinden die Stärkekörner, welche in den Chlorophyllkörnern junger Pflänzchen unter der Einwirkung des Lichtes entstanden waren, bei anhaltender Verdunkelung der Pflanze mehr oder weniger. Die Stärke besitzt überall, wo sie in der Pflanze auftritt, nur eine und dieselbe physiologische Bedeutung, die Bedeutung eines Reservestoffs. Die Stärkekörner werden im Innern oder an der Oberfläche besonderer Organe des Protoplasmaleibes der Zelle, der Stärkebildner, aufgebaut; als Stärkebildner fungiren auch die Chlorophyllkörner, man kann sie in *dieser* Beziehung als grüne Stärkebildner von den farblosen Stärkebildnern unterscheiden. Für die Deutung einer Substanz oder eines organisierten Gebildes als Reserve-material ist es ganz gleichgültig, ob dieselbe ein halbes Jahr, wie in der Zeit der Winterruhe, unverändert besteht, oder ob nur einige Tage, ja nur einige Stunden, um dann wieder anderweitig umgesetzt zu werden. Die Stärkekörner sind offenbar die Form, welche bei vielen Pflanzen jeder Ueberschuß von flüssigen Kohlenhydraten anzunehmen strebt, sobald er nicht zu anderweitiger Verwendung im Entwicklungsproceß der Pflanze gelangt, gleichsam eine stabile Gleichgewichtsform der Kohlehydrate, welche vielleicht das Protoplasma weniger belastet und daher von diesem ausgeschieden wird; diese Bedeutung kommt demnach den Stärkekörnern der Rhizome ebenso zu wie denen der Chlorophyllkörper. Wenn nun eine Pflanze, deren Chlorophyllkörner sich im Licht mit Stärke gefüllt hatten, diese Stärke im Finstern verliert, so ist der Proceß ein analoger, als wenn in einer

im Finstern austreibenden Kartoffelknolle die Zahl der Stärkekörner sich vermindert.

Man konnte nun erwarten, daß auch aus grünen, unter normalen Bedingungen erwachsenen Pflanzentheilen die reducirende Substanz im Finstern verschwinden werde. Zu dem Behuf wurde eine Anzahl *abgeschnittener* junger Zweige von *Salix aurita*, welche sehr reich an dieser Substanz waren, 14 Tage lang ins Dunkle gestellt; nach Ablauf dieser Zeit reagirte das aus ihnen erhaltene Destillat auf Fehling'sche Lösung immer noch sehr kräftig, eine Verminderung der Substanz war kaum nachweisbar. Wenn dieselbe zu den frühesten Erzeugnissen des Assimilationsprocesses gehören sollte, so waren die beiden Möglichkeiten vorhanden, daß zu ihrem weiteren Umsatz entweder das Licht oder der anatomische Zusammenhang der assimilirenden Gewebe mit der ganzen Pflanze, mit Stamm und Wurzeln, erforderlich ist. Eine in dieser Richtung bemerkenswerthe Beobachtung ist die Folgende. Im Sommer 1881 erwiesen sich sämmtliche untersuchte Arten von *Salix* und *Populus*, sowie *Vitis vinifera* sehr reich an dem flüchtigen reducirenden Körper, in einem zum vierten Theile mit dem Destillat gefüllten Probircylinder ward auf Zusatz von etwas Fehling'scher Lösung ein dicker Bodensatz von Kupferoxydul ausgeschieden. Als dagegen im Sommer 1882, wo fast ununterbrochen kühles, regnerisches Wetter und bedeckter Himmel vorherrschten, grössere Quantitäten von Weiden- und Pappelblättern behufs Darstellung der Substanz im Grossen in Arbeit genommen wurden, zeigten die erhaltenen Destillate *nur Spuren von Reductionsvermögen* gegen Fehling'sche Lösung, etwa in dem Grade wie diejenigen Blütenpflanzen, welche relativ am ärmsten an der Substanz bei unserer Untersuchung gefunden wurden. Der Gehalt daran kann also auch bei Pappeln und Weiden bedeutenden Schwankungen unterliegen; und dies wird wiederum verständlich, wenn man annimmt, daß unter ungünstigen Vegetationsbedingungen das in den Blättern spärlicher gebildete Assimilationsproduct sogleich fast vollständig in Kohlehydrate umgewandelt wird, und die flüchtige reducirende Substanz gar nicht zu grösserer Anhäufung gelangt. Ein ähnliches Verhältniß mag auch zwischen verschiedenen Species be-

stehen, welche die Substanz bei gleichen Vegetationsbedingungen in verschiedener Menge enthalten. Noch in einer anderen Hinsicht aber verdient das wechselnde Verhalten der Pappel- und Weidenblätter unser Interesse. Es zeigt, daß die flüchtige reducirende Substanz zeitweilig in der Pflanze sich vermindern kann bis nahezu zum Verschwinden, sie kann daher unmöglich ein excrementielles Nebenproduct des Stoffwechsels sein, sondern vermag offenbar als Material für anderweitige Stoffbildungen zu dienen. Endlich spricht dieser Befund entschieden für die Präexistenz der Substanz in der Zelle, weil es unwahrscheinlich ist, daß aus lebenden Blättern von Pappeln und Weiden das eine Mal durch Erhitzung auf 100° C. die flüchtige, Kupferoxyd reducirende Substanz in Menge aus den Constituenten ihres Protoplasma abgespalten werden sollte, das andere Mal nicht; die Substanz ist unzweifelhaft das eine Mal durch den normalen Vegetationsproceß der Pflanze in reichlicher Menge gebildet worden, das andere Mal nicht.

Eine weitere Rechtfertigung dieser Auffassung wird durch die folgenden Versuche gewährt.

Es wurden beblätterte Sträucher von *Symphoricarpus vulgaris*, *Cornus alba*, *Ligustrum vulgare*, *Lonicera coerulea*, *Ribes alpinum* — sämmtlich Pflanzen, deren Blätter ein lebhaft reducirendes Destillat liefern — mit vollständigem Wurzelballen ausgehoben, in große Töpfe eingepflanzt und in ein verdunkeltes Zimmer gesetzt. Nach 6 Tagen ward aus den abgepflückten Blättern dieser Pflanze ein Destillat hergestellt, und dieses Destillat zeigte bei *Symphoricarpus*, bei *Ligustrum*, *Cornus* und *Lonicera* keine Einwirkung mehr auf alkalische Silberlösung bei niedriger Temperatur; das Destillat von *Ribes* gab dagegen noch ein schwaches Reductionsvermögen zu erkennen, das aber nach weiterer 4tägiger Verdunkelung ebenfalls verschwunden war. Während von den übrigen Sträuchern die Blätter zu diesem Versuche verbraucht wurden, war bei *Symphoricarpus* und *Ligustrum* noch ein Theil der Blätter, die in der Dunkelheit ihr Reductionsvermögen eingebüßt hatten, erhalten geblieben. Diese beiden Sträucher wurden jetzt einige Tage dem Lichte ausgesetzt,

und das nunmehr aus den Blättern gewonnene Destillat schied aus alkalischer Silberlösung bei niedriger Temperatur einen deutlichen Silber Spiegel ab.

Die flüchtige reducirende Substanz der Blätter war also durch Aufenthalt der Pflanzen in Dunkelheit zum Verschwinden gebracht, durch nachfolgende Belichtung von neuem erzeugt worden.

VI.

Die vorstehend mitgetheilten Beobachtungen dürften geeignet erscheinen, die allgemeine Verbreitung der flüchtigen reducirenden Substanzen in den Blättern chlorophyllhaltiger assimilirender Pflanzen darzuthun; zugleich wurden wichtige Anhaltspunkte für die Bedingungen des Entstehens und Verschwindens dieser Substanzen im Stoffwechsel der Pflanze gewonnen. Es erübrigt noch die Hauptfrage: welches ist die genaue chemische Zusammensetzung der in Rede stehenden Körper? — Die Beantwortung dieser Frage in Angriff zu nehmen und womöglich zu entscheiden, hatte sich der eine von uns (R.) als besonderes Arbeitsthema für den Sommer 1882 vorbehalten; die Ausführung dieses Planes scheiterte an den überaus ungünstigen meteorologischen Verhältnissen dieses Jahres. Gerade diejenigen Gewächse, deren Laub im Sommer 1881 einen sehr reichen Gehalt an diesen flüchtigen Substanzen erkennen ließen, erhielten 1882 davon so wenig, daß es Verschwendung von Zeit, Arbeit und Material gewesen wäre, an die directe chemische Untersuchung heranzutreten. Es empfahl sich, einen günstigeren Sommer abzuwarten und die Arbeit auf diesen zu verschieben. Die Ursache der ange deuteten Umstände darf wohl mit Recht in dem Mangel an directem Sonnenschein während dieses ganz ungewöhnlichen Sommers erblickt werden: um so mehr, als die Abhängigkeit der Bildung jener Substanzen von der Beleuchtung durch das Experiment direkt nachgewiesen werden konnte.

Ob ein Theil der beobachteten reducirenden Substanz wirklich Formaldehyd ist, konnte somit bislang nicht festgestellt werden. Den-

noch sei erwähnt, daß Beobachtungen vorliegen, welche an der Aldehydnatur derselben keinen Zweifel lassen, indem es gelang, durch Behandlung mit Schwefelwasserstoff einen unzweifelhaften Sulfaldehyd aus den Destillaten abzuscheiden. Näheres über diesen Punkt möge späteren Mittheilungen vorbehalten bleiben.

Dagegen sei noch einer Untersuchung von anderer Seite gedacht, welche zu Resultaten gelangte, die mit den von uns erhaltenen im Einklange stehen.

Als eine specifische Reaction auf Aldehyd wurde in der analytischen Chemie bislang auch die folgende betrachtet. Wenn man eine verdünnte wässrige Fuchsinlösung mit etwas schwefliger Säure entfärbt, dann ein paar Tropfen eines Aldehyds hinzufügt, so wird die purpurrothe Farbe der Lösung wieder hergestellt. In der Mittheilung im zweiten Hefte dieser Untersuchung (S. 177) wurde notificirt, daß dies auch die erste Prüfung war, welche wir, und zwar mit positivem Erfolge, auf das Vorkommen von Aldehyd in den Destillaten von Pflanzenblättern angestellt haben. Mit diesen Versuchen beschäftigt, ging uns jedoch eine Arbeit zu von GUSTAV SCHMIDT: Ueber das Verhalten einiger organischer Verbindungen zu Fuchsinchwefligsäure.*) Nach den Untersuchungen von SCHMIDT kommt nun zwar das Vermögen, die Fuchsinfärbung wieder herzustellen, den Aldehyden ganz allgemein zu, ist aber denselben leider nicht ausschliesslich eigenthümlich. Der Verfasser fand, daß auch Aceton, Methylalkohol, Aethylalkohol, Propylalkohol, Isopropylalkohol eine Lösung von Fuchsinchwefligsäure zu färben vermögen, sodaß ein Aldehyd mit völliger Sicherheit durch dies Reagens nicht nachgewiesen werden kann; daher haben wir auf eine ausgedehntere Anwendung desselben verzichtet. von Wichtigkeit für uns ist aber noch der Nachweis von SCHMIDT, daß den mehrfach hydroxylirten Bezolen die Fuchsinreaction nicht zukommt, dieselben also — sie besitzen ja energisches Reductionsvermögen — beim Verhalten der Destillate aus Pflanzenblättern nicht mit im Spiele sind; dies konnte freilich auch durch anderweite Reactionen festgestellt werden.

*) Bericht d. d. chem. Ges. 1881. S. 1848.

Inzwischen hat, angeregt durch unsere Untersuchungen, A. MORI*) mit dem Fuchsinreagens die Destillate zahlreicher Pflanzen geprüft und gefunden, daß dieselben sämtlich die Färbung regeneriren. Daß in allen diesen Fällen es Aldehyde sind, welche diese Farbenreaktion hervorrufen, kann nach dem Verhalten der Destillate gegen Kupfer- und Silberlösung nicht zweifelhaft sein; der Grund, weshalb wir von dem Reagens keinen ausgedehnten Gebrauch gemacht haben, wurde soeben entwickelt. Uebrigens hat MORI ebenso wie wir eine Abhängigkeit der Bildung des Aldehyds vom Lichte nachgewiesen.

Noch ein Einwand, der gegen einige Folgerungen unserer Untersuchung erhoben werden könnte, möge hier kurz beleuchtet werden. Es ist eine bekannte Thatfache, daß den aus Pflanzentheilen gewonnenen ätherischen Oelen wohl ganz allgemein ein Reduktionsvermögen gegen alkalische Silberlösung zukommt; nun könnte man sagen, das von uns beobachtete Reduktionsvermögen der Destillate rühre her von einer geringen Menge ätherischen Oels. Darauf ist aber zu erwidern, daß die ätherischen Oele Substanzen von ganz verschiedenem chemischen Charakter umfassen, daß es meistens Gemenge sind, und daß, wenn sie reduciren, dies auf einer *Beimengung von Aldehyden* beruht, welche durch den Destillationsproceß aus den Pflanzenblättern frei gemacht wurden.

Sind doch anerkannter Massen manche aromatische Aldehyde ein Hauptbestandtheil mehrerer ätherischer Oele, so der Cuminaldehyd des Römisch-Kamillenöls, der Zimmtaldehyd des Zimmtöls der Salicylaldehyd des Oels aus *Crepis foetida* und *Spiraea Ulmaria*; allein auf Fehling'sche Lösung wirken diese aromatischen Aldehyde nicht ein. Das Verfahren der Herstellung bringt es jedoch mit sich, daß in allen ätherischen Oelen auch die von uns beobachteten Aldehyde mit enthalten sein können.

*) Nuovo giornale botanico 14. S. 147.

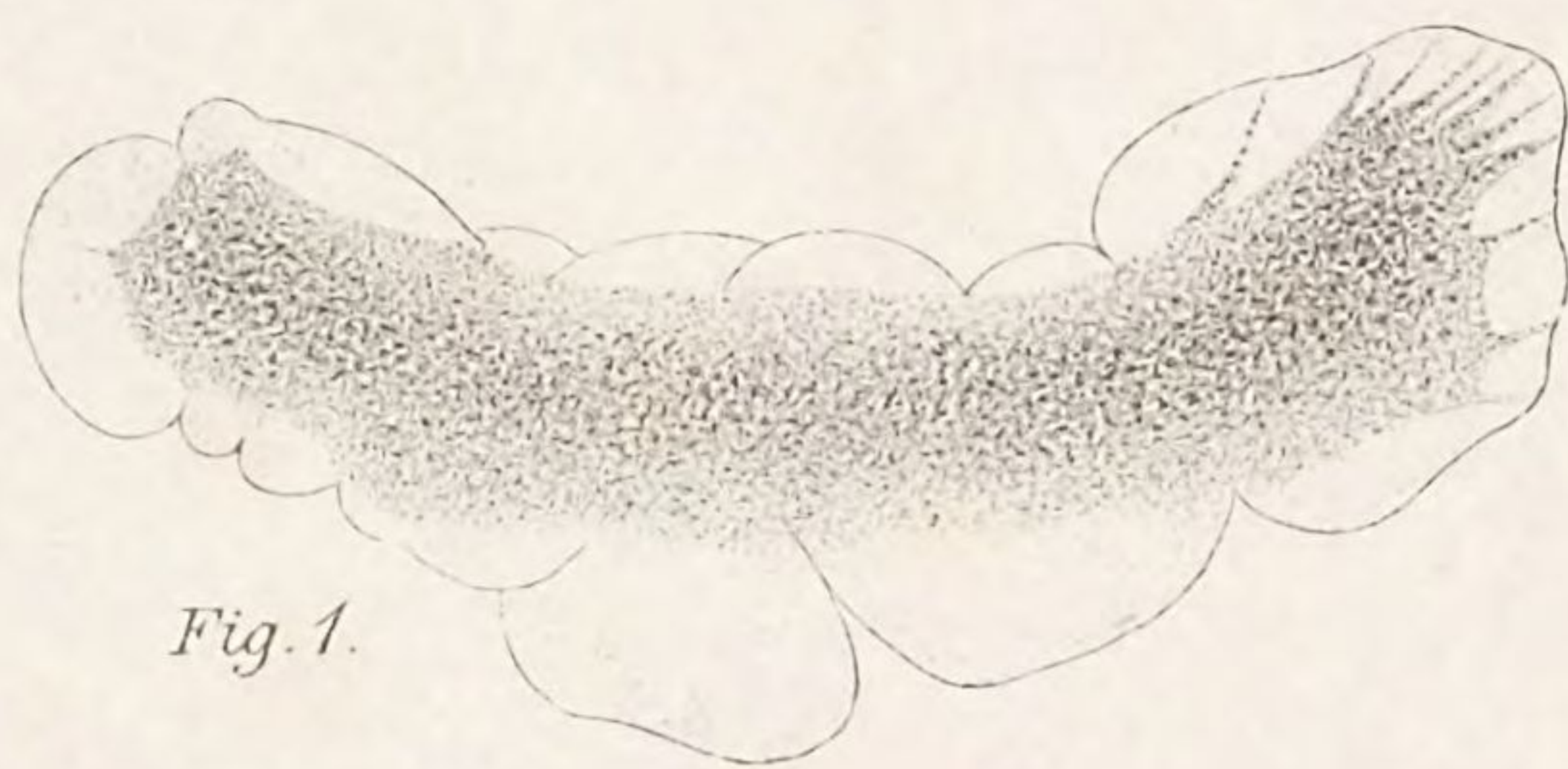


Fig. 1.

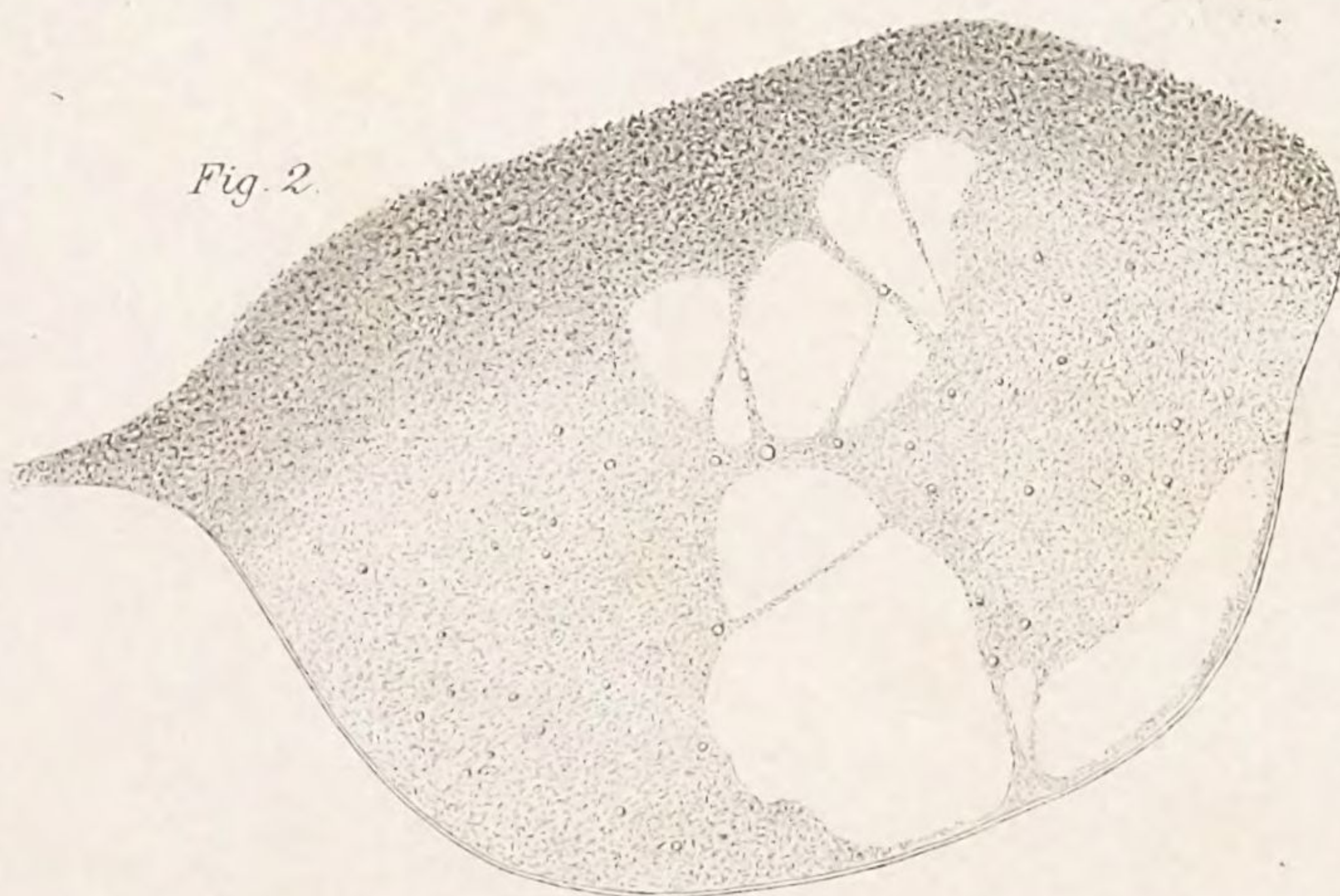


Fig. 2.

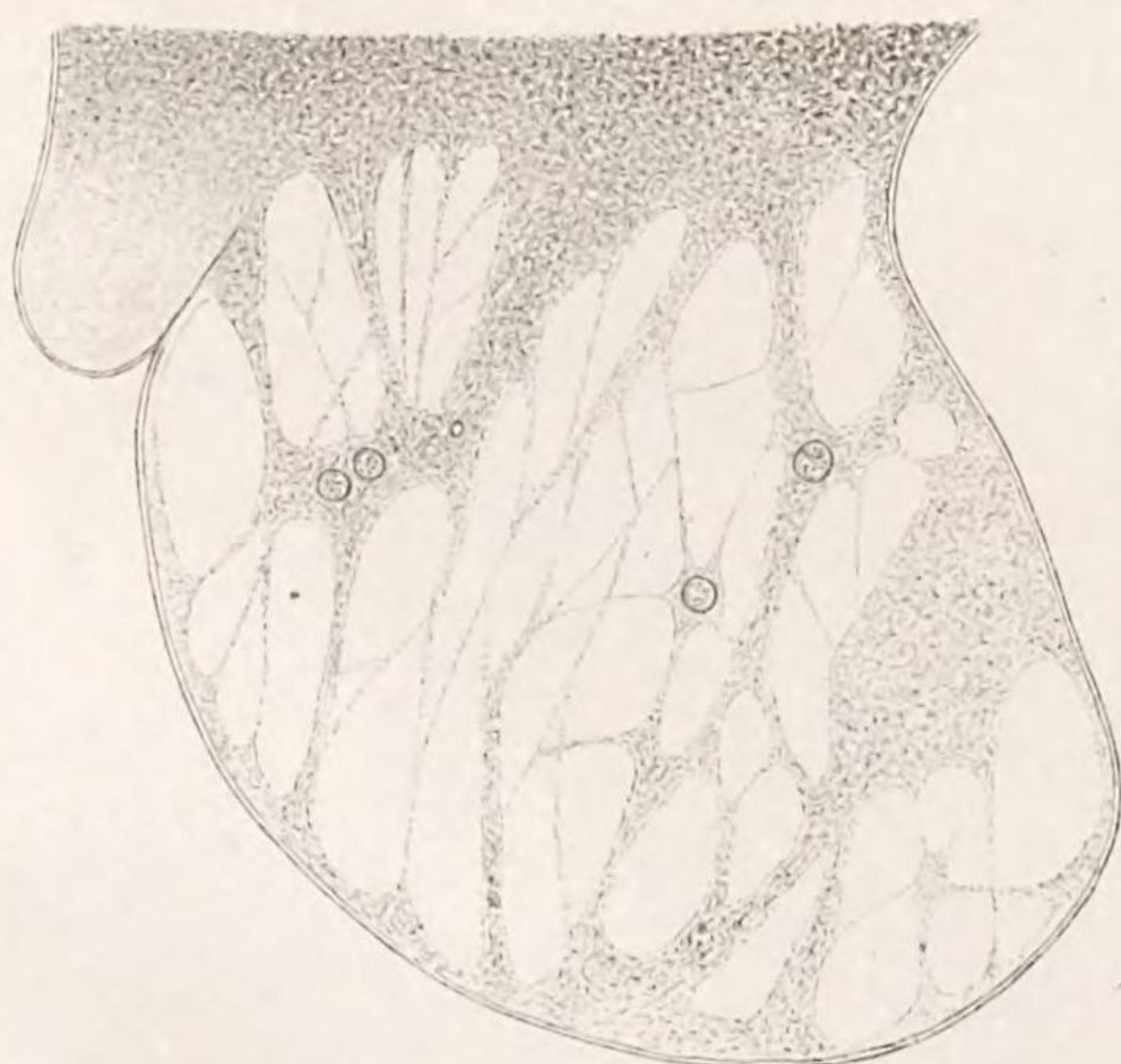


Fig. 3.

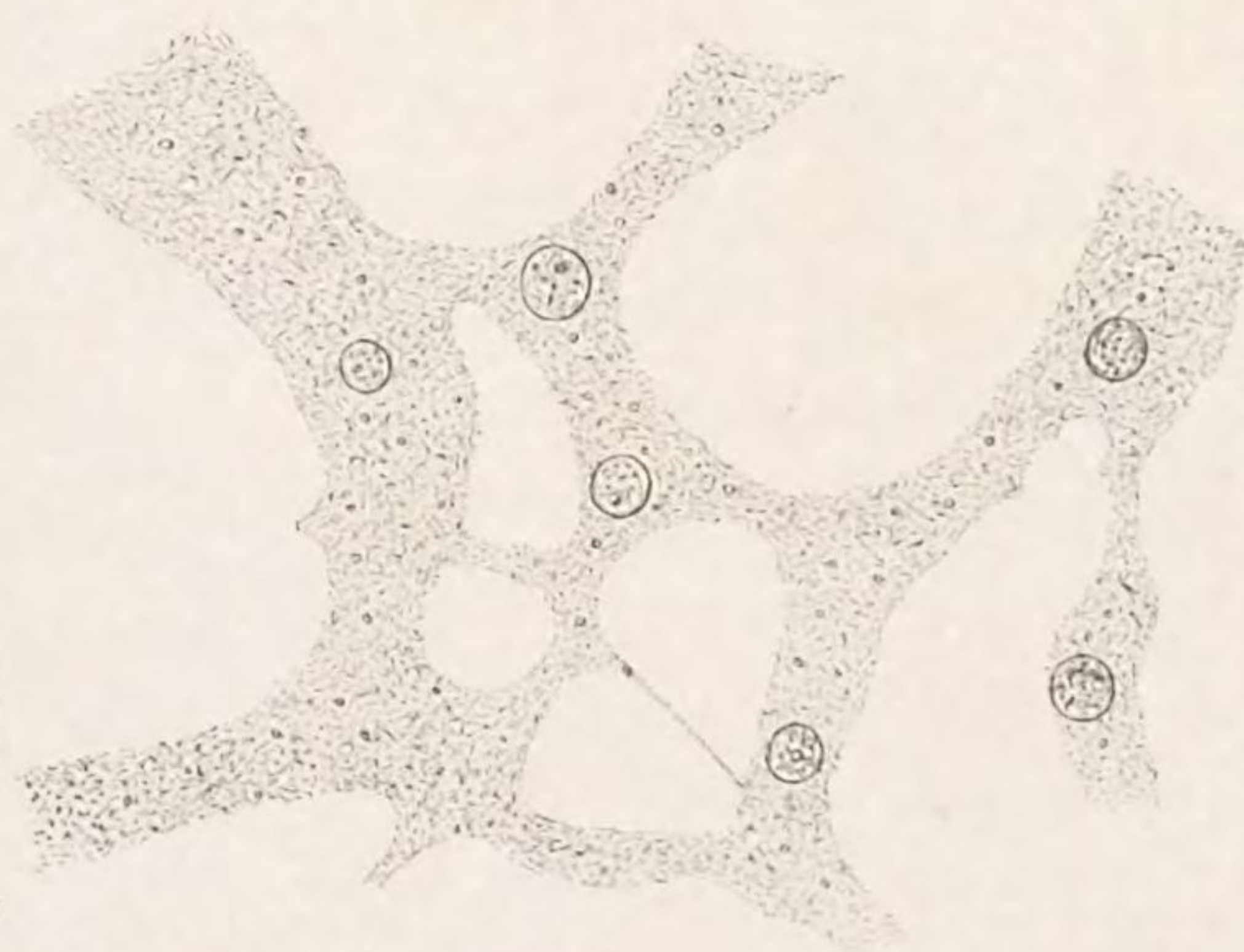


Fig. 4.

Verlag von PAUL PAREY in Berlin, SW. 91 Zimmerstrasse.

Lehrbuch der allgemeinen Botanik mit Einschluss der Pflanzenphysiologie.

Für den Gebrauch der Studirenden an Universitäten und Akademien,
sowie zum Selbststudium bearbeitet von

Dr. J. Reinke,

Professor der Botanik und Director des pflanzenphysiologischen Instituts der Universität Göttingen.

Mit 295 Originalholzschnitten und einer Tafel in Farbendruck. — Preis 12 Mark.

Botanische Wandtafeln von L. Kny.

I. Abtheilung. Tafel I—X.

I. Taf. Fig. 1: Zellen aus dem Blatt von *Elodea canadensis*. **Fig. 2:** Zelle eines Staubfadenhaares von *Tradescantia pilosa*. **II. Taf. Fig. 1—7:** Wachsthum und Theilung der Stärkekörner in der Kartoffel-Knolle. **Fig. 8:** Zusammengesetztes Stärkekorn aus der Wurzel von *Smilax medica*. **Fig. 9:** Desgl. aus dem Rhizom von *Arum maculatum*. **III. Taf. Fig. 1—4:** Einzel-Krystalle und Drusen des quadratischen Systemes (*Begonia manicata*, *Tradescantia discolor*, *Allium Cepa*). **Fig. 5 u. 6:** Krystalle des klinorhombischen Systemes (*Cycas revoluta*). **Fig. 7 u. 8:** Raphiden (*Lemna triscula*). **Fig. 9:** Sphaerokrystall (*Phallus caninus*). **IV. Taf. Fig. 1:** Copulation (Neubildung von Zellen durch Vereinigung zwei gesonderter Zellen) bei *Spirogyra nitida*. **V. Taf. Fig. 1:** Milchzellen von *Euphorbia splendens*. **Fig. 2:** Milchgefäße von *Lactuca sativa*. **VI. Taf. Fig. 1:** Epidermiszellen der Corolle von *Primula chinensis*, zu kegelförmigen Papillen sich erhebend. **Fig. 2:** Sichelförmiges Haar von *Rubia tinctorum*. **Fig. 3—5:** Entwicklung des Brennhaares von *Urtica urens*. **Fig. 6:** Knorriges Haar aus der Blüthe von *Viola altaica*. **Fig. 7:** Kolbenhaar der Blüthe von *Antirrhinum majus*. **VII. Taf. Fig. 1:** Zweispitziges Klimmhaar von *Humulus Lupulus*. **Fig. 2:** Sternhaar von *Deutzia scabra*. **Fig. 3:** Sternhaare aus den Luftkanälen des Blütenstieles von *Nuphar luteum*. **VIII. Taf.:** Längsschnitt durch ein dicotyledones Leitbündel, auf welchem die wichtigsten der darin vorkommenden Zellenarten, die häufigeren Verdickungsformen der Membran, die Perforation der Querwände bei den Gefäßen etc. dargestellt sind. **IX. Taf.** Querschnitt eines monocotyledonen Leitbündels (aus dem Innern des Stengels von *Sachurum officinarum*). **X. Taf.** Entwicklung des Embryo von *Brassica Napus*.

10 in Farbendruck ausgeführte Tafeln auf stärkstem Cartonpapier im Format von 69 Centimeter Höhe und 85 Centimeter Breite, nebst einem Hefte Text. Preis in Mappe 24 Mark.

II. Abtheilung. Tafel XI—XX.

XI. Taf. Bau und Entwicklung der mehrschichtigen Epidermis von *Ficus elastica*. **XII. Taf.** Eckstück eines Blattquerschnittes von *Pinus Laricio*. **XIII. Taf.** Spaltöffnung von *Thymus Serpyllum*, von der Fläche und im Querschnitt gesehen. **XIV. Taf.** Querschnitt durch ein Leitbündel des Blattstieles von *Polypodium vulgare*. **XV. Taf.** Theil eines Querschnittes durch einen dreijährigen Zweig von *Tilia parvifolia*. **XVI. Taf.** Querschnitt durch ein Leitbündel aus dem Stengel von *Cucurbita Pepo*. **XVII. Taf.** Medianer Längsschnitt durch die Wurzelspitze von *Secale cereale*. **XVIII. Taf.** Querschnitt durch eine entwickelte Keimwurzel von *Secale cereale*. **XIX. Taf.** Entwicklung der Samenknospe von *Oenothera biennis*. **XX. Taf.** Samenknospe von *Viola tricolor*, unmittelbar nach erfolgter Befruchtung.

10 in Farbendruck ausgeführte Tafeln auf stärkstem Cartonpapier im Format von 69 Centimeter Höhe und 85 Centimeter Breite, nebst einem Hefte Text. Preis in Mappe 24 Mark.

III. Abtheilung. Taf. XXI—XXX.

XXI. Taf. Entwicklung von *Peronospora calotheca* de Bary. **XXII. — XXIII. Taf.** Entwicklung von *Mucor Mucedo* L. **XXIV. — XXV. Taf.** Entwicklung von *Puccinia graminis* Pers. **XXVI. bis XXVIII. Taf.** Fruchtentwicklung der Florideen (*Nemalion multifidum* [Web. et Mohr], *Lejolisia mediterranea* Born., *Cudresnaja coccinea* [Poir.]). **XXIX. Taf.** Entwicklung der Stammspitze von *Hippuris vulgaris* L. **XXX. Taf.** Entwicklung der Stammspitze von *Elodea canadensis* (L. B. Rich. u. Michaux).

10 in Farbendruck ausgeführte Tafeln auf stärkstem Cartonpapier im Format von 69 Centimeter Höhe und 85 Centimeter Breite, nebst einem Hefte Text. Preis in Mappe 30 Mark.

IV. Abtheilung. Tafel XXXI—XL.

XXI. Taf. Entwicklung von *Rivularia bullata* (Poir). **XXXII. — XXXIII. Taf.** Entwicklung von *Eurotium*. **XXXIV. — XXXV. Taf.** Entwicklung von *Penicillium crustaceum* (L.) Fries. **XXXVI. — XXXVIII. Taf.** *Fucaceen*. **XXXIX. Taf.** Heterostiler Dimorphismus der Blüten von *Primula elatior* Jacq. **XL. Taf.** Heterostyler Trimorphismus der Blüten von *Lythrum Salicaria* L.

10 in Farbendruck ausgeführte Tafeln auf stärkstem Cartonpapier im Format von 69 Centimeter Höhe und 85 Centimeter Breite nebst einem Hefte Text. Preis in Mappe 30 Mark.

V. Abtheilung. XLI—L.

XLI. — XLIV. Taf. Entwicklung von *Claviceps purpurea* (Fries). **XLV. — XLVIII. Taf.** Entwicklung von *Botrydium granulatum* (L.). **IL. Taf.** Querschnitt durch ein Leitbündel mit zweigetheiltem Weichbaste aus dem mittleren Theile eines Blattstieles von *Chamaerops humilis* L. **L. Taf.** Reducirtes Leitbündel aus dem Stamme von *Elodea canadensis* (Rich. u. Michx.) im Querschnitt.

10 in Farbendruck ausgeführte Tafeln auf stärkstem Cartonpapier im Format von 69 Centimeter Höhe und 85 Centimeter Breite, nebst einem Hefte Text. Preis in Mappe 30 Mark.

Flora von Deutschland.

Zum Gebrauch auf Excursionen, in Schulen und beim Selbstunterricht

bearbeitet von

Dr. August Garcke,

Professor an der Universität und Custos am Königlichen Herbarium in Berlin.

Vierzehnte durchgesehene Auflage 1881. — Preis gebunden 4 Mark.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.





/ Reinke, Johannes, / Rodewald, H.

Studien über das Protoplasma

Bd.: Folge 2

1883

Phyt. 741 ud-3

urn:nbn:de:bvb:12-bsb11883280-8